

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA
FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR
LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

le Docteur Paul GENAUD

Licencié ès Sciences

Lauréat de la Faculté et des Hôpitaux

Médecin de l'Armée

- 1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LES ÉCHANGES D'IONS ENTRE
CELLULES DE LEVURE ET SOLUTIONS SALINES.
- 2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 6 juin, devant la Commission d'examen.

MM. MOLLIARD *Président.*

PORTIER }
JAVILLIER } *Assesseurs.*

PARIS

G. DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, (6^e)

1930

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

le Docteur Paul GENAUD

Licencié ès Sciences

Lauréat de la Faculté et des Hôpitaux

Médecin de l'Armée

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LES ÉCHANGES D'IONS ENTRE
CELLULES DE LEVURE ET SOLUTIONS SALINES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le , devant la Commission d'examen.

MM. MOLLIARD *Président.*

PORTIER }
JAVILLIER } *Assesseurs.*

PARIS

G. DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, (6^e)

—
1930



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyens honoraires : MM. APPELL, MOLLIARD.
Professeurs honoraires : MM. JOANNIS, LE CHATELIER,
LEBESGUE, FERNBACH, LEDUC.

PROFESSEURS

I. — Sciences mathématiques.

MM.	MM.
Géométrie supérieure	Mécanique physique et expérimentale
Analyse supérieure et algèbre supérieure	Mécanique rationnelle
Calcul différentiel et calcul intégral	Application de l'Analyse à la géométrie
Théorie des fonctions et théorie des transformations	Mathématiques générales
Mécanique analytique et mécanique céleste	Hydrodynamique et mécanique des fluides
Astronomie	Calcul différentiel et calcul intégral
Calcul des probabilités et physique mathématique	Théories physiques
Emile BOREL.	Calcul des probabilités et physique mathématique
	FRÉCHET.

II. — Sciences physiques.

MM.	MM.
Physique générale	Chimie générale
Physique	Théories chimiques
Physique générale et radio-activité	Etude des combustibles
Physique	Chimie (Enseignement P.C.N.)
Physique théorique et physique céleste	Physique
Eugène BLOCH.	Chimie minérale
Chimie physique	Minéralogie
Chimie minérale	Mécanique expérimentale des fluides
Chimie organique	Physique
Chimie appliquée	Physique théorique et physique céleste
Minéralogie	Chimie physique
Gabriel BERTRAND.	Physique P. C. N.
Electrotechnique générale ...	Optique appliquée
Ariation	Radioactivité
Physique du globe	DEBIERNE.

III. — Sciences naturelles.

MM.	MM.
Zoologie	Géologie structurale et géologie appliquée
Anatomie et physiologie comparées	Géographie physique et géologie dynamique
Zoologie, évolution des êtres organisés	Botanique
Physiologie générale	Laboratoire de Banyuls
Zoologie (Enseignement P. C. N.)	Pétrographie
R. PERRIER.	Géologie (P. C. N.)
Physiologie comparée	Paléontologie
Biologie expérimentale	Chimie biologique
Botanique	Zoologie (évolution des êtres organisés)
Physiologie végétale	Zoologie
Géologie	Ch. JACOB.
	Botanique (P. C. N.)
	GUILLIERMOND.

CHARGES DE COURS

MM.	MM.
Mathématiques	Chimie (Enseignement P.C.N.)
Mathématiques	Mathématiques
Mathématiques	Physique (P. C. N.)
Mathématiques	N...

MAITRES DE CONFERENCES

MM.	MM.
Astronomie	Chimie analytique
Botanique coloniale	Physique du globe
Chimie organique	Physiologie
M ^{me} RAMART-LUCAS.	Zoologie
Mécanique expérimentale des fluides	Mécanique physique et expérimentale
Mécanique théorique des fluides	Zoologie
H. BÉGHIN.	Optique appliquée
Théories physiques	CHRÉTIEN.
L. DE BROGLIE.	

CHARGES DE CONFERENCES

Physique	MM. M. BRILLOUIN.	Géométrie supérieure	THYBAUT.
----------------	-------------------	---------------------------	----------

MAITRES DE CONFERENCES ADJOINTS

MM. FREUNDLER, MARQUIS, DÉCOMBE, COUPIN, MARIE, CHÉNEVEAU, GAIN.

ADMINISTRATION

Doyen MM. MAURAIN. Secrétaire A. PAG.

A MES PARENTS

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE LA FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

MM. P. MAURIAC

Professeur à la Faculté de Médecine, Médecin des Hôpitaux

E. AUBEL

Professeur honoraire à la Faculté des Sciences Chef du Service
de Chimie biologique à l'Institut de Biologie physico-chimique

H. DEVAUX

Professeur à la Faculté des Sciences

L. GENEVOIS

Maître de conférences à la Faculté des Sciences

Hommage de respectueuse et affectueuse reconnaissance

A MONSIEUR A. MAYER

Professeur au Collège de France
Directeur de l'Institut de biologie physico-chimique

Hommage de respectueuse gratitude

A MES MAITRES DES HOPITAUX CIVILS
ET MILITAIRES

A MES JUGES

MM. MOLLIARD, président

Doyen honoraire de la Faculté des Sciences de Paris
Professeur à la Sorbonne
Membre de l'Institut

JAVILLIER

Professeur à la Sorbonne
Directeur du Laboratoire de chimie physiologique
à la Société d'Hygiène Alimentaire

PORTIER

Professeur à la Sorbonne et à l'Institut Océanographique
Membre de l'Académie de Médecine

PLAN

CHAPITRE PREMIER. — <i>Historique de la question</i>	7
CHAPITRE II. — <i>Technique générale des recherches</i> ...	16
CHAPITRE III. — <i>Etude des ions monovalents</i>	24
CHAPITRE IV. — <i>Etudes des ions bivalents</i>	54
CHAPITRE V. — <i>Coloration vitale et échanges d'ions</i> .	77
CHAPITRE VI. — <i>Conclusions</i>	85
BIBLIOGRAPHIE.	92

Recherches sur les échanges d'ions entre cellules de levure et solutions salines

Par PAUL GENAUD

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE DE LA QUESTION

Recherches de H. Devaux

En 1896, H. DEVAUX publiait, à la Société des Sciences physiques et naturelles de Bordeaux, la première note sur ses recherches d'absorption des ions par les tissus végétaux.

Dans ce premier mémoire, l'auteur montre que l'eau circulant lentement dans les canalisations en plomb de son laboratoire, dissolvait une quantité très faible du métal 0 mmgr. 1 à 0 mmgr. 3 par litre selon la vitesse d'écoulement, mais qui était suffisante cependant pour faire dépérir des *Elodea canadensis* et des *Lemna trisulca* : il s'agissait d'une véritable intoxication saturnine.

Pour purifier une eau contenant des traces de plomb, comme celle des conduites, il suffit de la faire écouler lentement sur un paquet de *Lemna* : l'eau qui sort ne contient plus aucune trace de plomb. Cependant, au fur et à mesure que le contact se prolonge, la plante semble se saturer de plus en plus en plomb, et il arrive un moment où l'eau contient autant de métal à la sortie qu'à l'entrée.

De plus, l'auteur constatait déjà la rapidité avec laquelle pénétrait le métal dans les cellules.

Enfin, il tentait un essai de localisation intra-cellulaire du plomb sans succès, il est vrai, mais situait nettement le métal sur les portions âgées des racines, les parties jeunes en étant dépourvues en totalité et cela aussi bien sur les plantes aquatiques que sur les plantes terrestres.

Ce premier travail montre donc :

Que certaines plantes sont capables d'absorber très rapidement l'ion Pb, qui s'accumulant dans les parties âgées des racines, finit par empoisonner les plantes étudiées.

Ces premiers résultats expérimentaux étaient vraiment trop intéressants pour ne pas susciter d'autres recherches dans le même sens.

Aussi, cette première note fut-elle le point de départ de toute une série de mémoires échelonnés sur 25 ans de recherches.

Le même auteur montra que cette absorption véritablement attractive des cellules pour les métaux était spécifique et était due essentiellement ou exclusivement aux composés pectiques des parois cellulaires. Cette fixation métallique est si marquée, que l'auteur s'en est servi comme réactif spécifique des substances pectiques. Les meilleurs réactifs de ces derniers composés, ceux qui donnent des colorations vraiment stables, sont des sels métalliques, et non pas des matières colorantes d'origine organique. Il généralisa ainsi un procédé de coloration bien moins onéreux que celui que l'on utilisait avant : l'oxy-chlorure ammoniacal de ruthénium (MANGIN) qui, remarquons-le, est précisément un sel métallique.

Ces constatations d'ailleurs concordaient parfaitement avec celles de MANGIN. Dans l'un et l'autre cas, les composés pectiques présentent les caractères d'acide faible et se colorent par les colorants basiques.

Après le Pb, DEVAUX étudia l'absorption d'autres métaux (Fe, Cu, Pb, Ag, Ni, Co, Cd, Hg, Au, Pt), mais les résultats qu'il obtint avec ces derniers, furent moins nets qu'avec le Pb, dont le dosage par la méthode colorimétrique est suffisamment exact et rapide pour un œil un tant soit peu exercé.

DEVAUX décèlait la présence de ces métaux dans les tissus végétaux par la méthode spectroscopique, qui ne pouvait lui donner que des résultats qualitatifs ou très grossièrement quantitatifs.

Cette technique cependant lui valut d'aboutir à un certain nombre de conclusions fort intéressantes :

1° L'attraction et la fixation de ces métaux par les composés pectiques de la paroi cellulaire.

2° L'indifférence de l'anion opposée à l'importance du cation dans le sel étudié.

3° Le pouvoir de condensation formidable que possèdent les parois des tissus (fixation du cuivre dans une solution contenant un milligramme de Cu pour dix hectolitres ! et la limite ne serait pas atteinte !)

4° Les variations de l'énergie avec laquelle les divers métaux sont pris à leurs solutions salines par les parois cellulaires.

5° La possibilité de déplacement d'un métal fixé par un autre métal ; à cet égard, il semble que les métaux lourds et alcalino-terreux soient plus fortement fixés que les métaux alcalins, c'est-à-dire plus difficiles à déplacer que ces derniers.

6° Enfin, dans l'étude de l'absorption du calcium par un tissu, l'auteur est frappé par ce fait que la quantité totale de Ca absorbée est la même quelle que soit la richesse en calcium de l'eau calcaire (eau distillée, eau ordinaire, eau saturée de CO_2Ca).

Tous ces résultats expérimentaux surprenants à prime abord, s'éclaireront à la lumière des considérations théoriques que nous exposerons plus loin.

Frappé des propriétés absorbantes des parois cellulaires, DEVAUX, dès 1904, comparait avec raison le pouvoir absorbant des composés pectiques à celui du sol arable.

En effet, les caractéristiques essentielles du pouvoir absorbant du sol à l'égard des solutions salines sont :

1) Fixation unique des bases.

2) Énergie de cette fixation, au point qu'une petite quantité de substance suffit à la satisfaire.

3) Possibilité de déplacer une base fixée par un sel quelconque d'un autre métal, et inversement (phénomène du déplacement réciproque des métaux).

Il y a donc, comme on le voit, parallélisme entre les propriétés absorbantes du sol et celles des parois cellulaires.

Nous reviendrons plus loin sur cette similitude de propriétés. Mais signalons que DEVAUX, il y a 25 ans, était frappé par le fait que c'étaient des colloïdes qui possédaient ces propriétés absorbantes : la pectose de la paroi cellulaire végétale et en face l'argile et les composés humiques du sol.

« Les poils radicaux, disait-il, siège de l'absorption, ont une paroi dépourvue d'une cuticule de sorte que la pectose est en contact direct et intime avec les particules du sol. L'ensemble, sol et parois, forme dès lors un système colloïdal ayant partout les mêmes propriétés absorbantes. »

Quinze ans plus tard, en 1916, DEVAUX reprenait ses études sur les échanges ioniques non plus sur des parois cellulaires isolées, mais bien sur des cellules vivantes. Les conclusions auxquelles il aboutit furent identiques.

Il répéta ses expériences en variant les métaux employés : alcalins, alcalino-terreux, métaux lourds. Il retrouva, — et il semble qu'il ait toujours accordé non sans raison, beaucoup d'importance à ce phénomène, — la puissance de condensation des cellules pour la base du sel en dilution.

Il constata la rapidité avec laquelle se fait l'absorption qui est quasi instantanée, les quantités de métal absorbées dans les minutes qui suivent étant relativement faibles, et il montra que l'équilibre entre la cellule et le milieu ambiant était sensiblement atteint au bout de quatre heures.

Cet équilibre une fois atteint, il est possible en renouvelant le contact avec une solution neuve, de faire absorber à la plante une quantité de métal presque égale à celle qui aurait été absorbée lors du premier passage. Pourtant la plante semblait saturée *a priori*.

Il pose ainsi pour la première fois la notion de coefficient de partage dont il étudie les variations en fonction de la concentration de la solution extérieure.

Le sel employé fut le sulfate de fer dont les concentrations allaient de $\frac{1}{10.000}$ à $\frac{1}{100.000}$.

La plante étudiée fut : *Potamogeton luceus*.

Il constata alors que le coefficient de partage était indépendant entre certaines limites de la concentration.

L'absorption absolue était à peu près proportionnelle à la concentration, du moins pour les dilutions de $\frac{1}{100.000}$ à $\frac{1}{10.000}$. Elle diminuait légèrement entre $\frac{1}{10.000}$ et $\frac{1}{1.000}$.

Le fer absorbé, DEVAUX essaya de le chasser par l'eau distillée en premier lieu ; il réussit par ce procédé à déplacer un peu du métal fixé par la plante ; il semble qu'il s'agisse ici d'une légère erreur expérimentale, due à un lavage insuffisant de la plante après son contact avec le sel de fer ; car, nous l'avons constaté maintes fois, le lavage d'un tissu à l'eau distillée après un échange d'ion ne laisse aucune trace appréciable de métal.

Quoi qu'il en soit, et c'est là le fait capital, le lavage de la plante avec une solution saline déplace le métal fixé incomparablement mieux qu'avec de l'eau distillée. Cet effet de dégorgement est moins marqué avec les sels de K et de NH_4 , qu'avec ceux de Ca, au point que dans ce dernier cas on assiste à une véritable permutation $\text{Fe} \rightleftharpoons \text{Ca}$.

L'auteur répéta ces expériences avec le Pb : il obtint des résultats entièrement comparables. Il termine une de ses notes sur une notion dont les conséquences physiologiques ne sont pas sans valeur : l'action antitoxique des sels, et spécialement ceux de chaux — en raison de leur grand pouvoir de déplacement, — à l'égard des solutions de sels de métaux toxiques.

DEVAUX multiplia ses expériences en variant non seulement les solutions salines et les tissus vivants (plantes supérieures, algues ; par contre, le seul champignon examiné (*sterigmatozystis nigra*), a donné des résultats négatifs), mais encore en modifiant le dispositif expérimental.

Tantôt, il se contentait de mettre dans une simple allonge verticale les plantes sur lesquelles il versait par le haut de

l'allonge la solution saline dont il voulait étudier l'action ; tantôt, et d'une façon plus ingénieuse, il sectionnait de jeunes pousses, et reliait chaque fragment de tige par un tuyau de caoutchouc à un tube de verre, le tout suspendu verticalement ; il remplissait ce dernier avec la solution saline à étudier, qui s'écoulait peu à peu à travers les vaisseaux et qu'il recueillait à sa sortie pour en étudier les modifications.

C'est précisément par l'un de ces deux procédés qu'il tenta de décalcifier totalement une plante au moyen d'une solution de KCl à $\frac{1}{4.000}$ renouvelée plusieurs fois. Après 45 heures d'expérience, qui correspondaient à 11 renouvellements, il ne put réussir à épuiser la plante, qui n'avait perdu que 50 % environ de son poids de calcium.

Enfin, toutes les plantes ainsi traitées restèrent en parfait état dans les jours qui suivirent les essais. -D'ailleurs, l'empoisonnement par le plomb, qui avait frappé l'auteur au début de ses recherches, n'est pas immédiat, car la plante se défend pendant un certain temps contre l'action toxique du métal.

A ces recherches d'ordre purement physiologique, il convient d'ajouter des expériences d'ordre physique dues à AUBEL et DEVAUX, relatives à l'adsorption des ions par le verre, réunies dans une note parue en 1926 à la Société des Sciences Physiques et Naturelles de Bordeaux.

Ils ont utilisé le coton de verre qui réalise une surface d'adsorption considérable sous un volume relativement très faible (18.605 cm² pour 8 centicubes) qu'ils ont arrosé avec des sels de Ca. Ils ont constaté alors que le verre se recouvrait d'une épaisseur monoionique de Ca, que cette fixation dépendait uniquement du cation, l'anion étant indépendant et non adsorbé.

De plus, ils ont montré que l'ion Ca, ainsi adsorbé était déplaçable par un sel alcalin, par un acide ou par le sulfate de quinine, et ils ont mis en évidence que dans cet essai de décalcification du verre, le cation seul jouait un rôle.

De plus, et c'est sur ce point que leurs expériences sont vraiment originales, ils ont montré qu'à côté de l'adsorption

superficielle il y avait une fixation profonde qui obéissait aux mêmes lois que la première quant aux phénomènes de déplacement réciproque. « Le verre se comporte donc comme un *gel*, montrant l'adsorption non seulement à sa surface, mais aussi dans sa masse. »

Il y a donc, comme on le voit, de grosses analogies dans l'adsorption des ions sur une surface de verre et l'absorption ionique par la cellule vivante, qui, comme nous le montrons, est non seulement un phénomène de surface, mais encore un phénomène de profondeur ou de masse.

En résumé, les caractères essentiels des travaux commencés par DEVAUX, il y a près de trente-cinq ans, sont :

- 1° L'absorption des ions par les tissus végétaux.
- 2° La fixation des bases à l'exclusion des acides.
- 3° La puissance de condensation.
- 4° Le facile remplacement d'une base par une autre.

DEVAUX a étudié la question surtout comme botaniste ; c'est pour cette raison que seuls les résultats qualitatifs ont retenu son attention. Il multiplie les tissus végétaux et les sels expérimentés pour essayer de généraliser le phénomène trouvé. Pour la même raison, il tente avec plein succès la localisation du métal absorbé dans telle région de la plante, mais avec moins de succès la localisation intra-cellulaire. Enfin, il en déduit des conséquences intéressantes pour la physiologie végétale (coloration de la pectose ; nutrition de la plante).

C'est peut-être, parce que travaillant surtout sur un terrain spécial, que l'auteur n'a pas donné de résultats quantitatifs.

Or, c'est précisément par ce moyen, ainsi que nous le montrerons, que l'on peut, tout en généralisant le phénomène, se rendre bien compte du mécanisme intime des échanges d'ions. Aussi, dresser des bilans complets, sera l'objet principal de notre travail.

Formules de L. GÉNEVOIS. — Les échanges d'ions entre sels solubles et sels insolubles.

L. GÉNEVOIS, en 1926, groupa tous les résultats expérimen-

taux de H. DEVAUX et chercha à les synthétiser dans une série de lois. Il étudia par le calcul le déplacement d'ions entre sels solubles et sels très peu solubles, en appliquant la loi d'action de masse à l'état d'équilibre.

Il démontra ainsi que :

1° Lors du déplacement d'un ion par un ion de même valence, le coefficient de partage (rapport de la concentration finale à la concentration initiale) est indépendant de la concentration initiale.

2° Un ion monovalent ne peut déplacer efficacement un ion bivalent qu'en solution concentrée..

3° Lors du déplacement d'un ion monovalent par un ion trivalent, le coefficient de partage tend à être proportionnel à la concentration.

4° Un ion trivalent est capable de déplacer un ion bivalent même en solution étendue. L'effet de déplacement tend à s'annuler en solution concentrée.

5° Enfin, dans le cas d'ions tétravalents, le coefficient de partage devient très petit avec la concentration.

Signification de ces résultats : Les résultats que nous venons de voir sont susceptibles de maintes vérifications quand on se place uniquement sur le terrain chimique.

GULDBERG et WAAGE (1867) ont appliqué les premiers la loi d'action de masse aux échanges entre sels solubles et sels insolubles. Ils ont étudié, à cet égard, la réaction suivante :



Ils ont trouvé que l'équilibre demandait des mois pour être atteint : à ce moment, le rapport $\frac{\text{CO}^2}{\text{SO}_4}$ était égal à 4.

FRINDLAY (1900) a de même étudié la réaction analogue :



CHARRION A. (1925) a montré que :

1) un corps adsorbé par un précipité peut être déplacé sur ce précipité par un corps de même fonction mais possédant une valence plus élevée.

2) un corps adsorbé ne peut pas être déplacé par un corps possédant une valence moins élevée.

3) dans le cas de deux corps de même valence, le corps adsorbé sera déplacé par l'autre corps si ce dernier est en solution très concentrée.

On voit de suite l'avantage qu'on peut tirer de ces résultats pour l'élimination d'une impureté qui aurait été adsorbée par un précipité.

Si on se place maintenant sur le terrain physiologique, on pourra constater que les formules de GÉNEVOIS se vérifient dans leurs grandes lignes. Certes, la concordance n'est pas parfaite et les résultats que nous obtiendrons ne sont pas entièrement superposables à ceux formulés par GÉNEVOIS ; cela tient à ce que ce dernier auteur a étudié des cas simples ; or, dans les conditions naturelles, on ne rencontre que des cas complexes où plusieurs sels insolubles réagissent avec le sel soluble extérieur, la cellule étant en effet un milieu très hétérogène.

Quoi qu'il en soit, les règles de GÉNEVOIS constituent un guide précieux pour la conduite des expériences, et permettent de prévoir dans la majorité des cas la nature et le degré des phénomènes qui vont se passer.

Outre DEVAUX et GÉNEVOIS, d'autres auteurs se sont occupés de la question d'absorption ionique. Mais leurs recherches ont eu trait surtout aux ions qui entraient, beaucoup moins à ceux qui sortaient, et n'ont jamais donné lieu à des résultats quantitatifs. Cependant, comme ces travaux sont intéressants à plus d'un égard, nous les signalerons sans grand développement et à mesure qu'ils se présenteront.

CHAPITRE II

TECHNIQUE GENERALE DE NOS RECHERCHES

Position du problème

Nous avons dit dans le chapitre précédent que l'objet principal du présent travail était l'établissement de bilans complets.

Une cellule est mise au contact d'une solution d'un sel simple dont la dilution est telle que la dissociation peut être considérée comme totale.

Pour chaque ion en solution il y a deux cas à envisager :

- 1) La cellule est imperméable à cet ion.
- 2) L'ion extérieur pénètre dans la cellule.

Dans cette dernière éventualité, il y aura lieu alors d'étudier :

a) dans quelles proportions cet ion est absorbé par la cellule, et ceci en faisant varier les conditions expérimentales.

b) quelle est la mesure et quelle est la proportion des ions perdus par la cellule.

Les conditions expérimentales

Pour obtenir des résultats d'interprétation facile, un certain nombre de conditions expérimentales sont à observer :

1) Les tissus expérimentés doivent être minces et à grande surface. Le type est représenté par les cellulles de levure et par les algues filamenteuses ou unicellulaires : ce sont d'ailleurs, à peu près, les seuls tissus dont nous nous sommes servis.

D'autre part, et cela se conçoit aisément, il faut opérer avec des tissus frais ; la quantité de matériel ne saurait être limitée,

tout au moins dans une certaine proportion, lorsque l'on possède une glacière. Par ce moyen, nous avons pu conserver des stocks importants de levure, — qui s'altère très aisément à la température ordinaire —, même pendant les fortes chaleurs qui ont sévi ces derniers étés.

2) Le contact de la solution saline avec la plante sera réalisé de plusieurs façons :

a) Soit en mettant les végétaux dans un entonnoir muni d'un robinet ; la solution passera alors un nombre de fois d'autant plus grand que l'écoulement sera plus rapide. En pratique, il y a avantage à tasser modérément les tissus.

b) Soit le plus souvent, en mettant les plantes dans un ballon Pasteur que l'on agitera soi-même ou que, plus pratiquement, on placera sur une machine à agitation.

c) Enfin, quand on expérimente des fragments de tige, on peut employer le dispositif très ingénieux de DEVAUX, dans lequel chaque fragment est relié par un bout de tuyau de caoutchouc à un tube de verre de 1 m. de long ; on suspend le tout verticalement, le tube de verre en haut. On remplit ce dernier avec de l'eau distillée qui s'écoule peu à peu à travers les vaisseaux en chassant tout d'abord la sève ; ceci fait, on remplace l'eau distillée du tube supérieur par de la solution saline que l'on veut étudier et que l'on recueille à la sortie des vaisseaux.

Quelle doit être la durée du contact pour que l'état d'équilibre soit atteint ?

Les expériences sur la vitesse d'absorption des ions nous montreront que l'on peut considérer l'état d'équilibre comme pratiquement atteint au bout d'une heure. Cet équilibre n'est d'ailleurs qu'approché ; la respiration des tissus, les rendant plus acides, à elle seule suffirait pour troubler l'équilibre.

Pour la même raison, il faut éviter de donner du sucre à la cellule de levure expérimentée. En effet, si le sucre augmente dans des proportions très fortes l'intensité respiratoire et l'intensité de fermentation de la cellule de levure (GÉNEVOIS et GENAUD, 1929) il constitue, par suite des acides formés au cours de la fermentation alcoolique, une cause perturbatrice

très importante pour l'équilibre ionique. Cette acidité s'installe, d'ailleurs très rapidement ; et une solution sucrée neutre au départ est tombée à un pH de 4 au 3 au bout d'une heure.

3) Il résulte donc de ce que l'on vient de dire que l'on doit opérer avec des solutions neutres, sinon le milieu n'est plus simple ; s'il est acide, par exemple, à côté de l'ion expérimenté on a des ions H en quantité d'autant plus grande que le pH est plus bas ; ce n'est donc plus une seule catégorie d'ions qui est offerte à la cellule, mais bien deux dont les vitesses de diffusion sont inégales, les ions H étant les plus rapides.

Cette obligation dans laquelle on se trouve d'opérer à $\text{pH} = 7$ limite nécessairement le nombre de sels susceptibles d'être utilisés. En effet, le sel doit-être soluble à $\text{pH} = 7$.

Or, les sels qui réalisent cette double condition (purs et solubles à $\text{pH} = 7$) ne sont pas en très grand nombre.

4) La valence doit-être bien définie et rester fixe. Nous avons vu en effet, avec GÉNEVOIS, que la valence était le facteur capital dans la valeur de l'équilibre ionique. Il est donc nécessaire d'opérer avec un cation de valence bien définie et stable.

Cette nouvelle obligation réduit encore les limites des sels utilisables ; ne devront être employés, en effet, que les cations à valence définie et fixe dont le sel est soluble à $\text{pH} = 7$.

Nous devons donc exclure les sels de fer qui sont tantôt ferreux, tantôt ferriques selon les conditions expérimentales. Pour la même raison ne sauraient être utilisés les sels de chrome, d'étain etc...

5) Nécessité de connaître au moins approximativement la composition minérale de la plante expérimentée, de façon à ce que la quantité totale d'ions présents dans la solution soit au plus égale à la quantité totale d'ions contenus dans la masse de tissu expérimenté. Il faut obtenir en effet que la plante soit saturée par tous les ions présents.

Soit :

C la concentration d'un ion de valence bien définie pour 1.000 grammes de tissu frais.

P poids de tissu utilisé.

C' concentration d'un autre ion de même valence.

P' volume de la solution saline de ce dernier ion que l'on met en présence de la plante.

On doit avoir :

$$C' P' \leq C P$$

a) Si P' est fixe, on devra prendre une solution de concentration C' telle que :

$$C' \leq \frac{C P}{P'}$$

b) Si C' est fixe, on devra prendre un volume P' tel que :

$$P' \leq \frac{C P}{C'}$$

Le calcul de l'expérience montrent que ces concentrations sont rarement supérieures à $\frac{N}{100}$:

C'est à cette condition que l'on est en droit d'espérer un échange raisonnable. D'autre part, remarquons avec GÉNEVOIS que les solutions salines artificielles utilisées en physiologie sont à peu près du même ordre de grandeur.

Il est bien entendu, que dans les essais d'épuisement de la cellule que nous étudierons plus tard, cette condition ne saurait être observée.

Signalons enfin que l'emploi de solution trop concentrée pourrait avoir un effet fâcheux sur l'étude de l'équilibre ionique ; c'est la possibilité de la plasmolyse sur des plantes qui présentent facilement ce phénomène comme les algues.

6) Nécessité de contrôler après chaque expérience d'échange d'ions l'état de la cellule au microscope, non seulement pour se mettre en garde contre le phénomène précédent, mais encore pour voir l'aspect général de la cellule comparé avec celui des cellules non expérimentées.

7) Nécessité de vérifier l'activité respiratoire et l'activité de fermentation des tissus soumis aux expériences et de comparer ces deux valeurs à celles des tissus intacts.

C'est pourquoi, il est très utile de posséder un appareil simple, pratique et suffisamment sensible pour mesurer le IO^2 et le Fco^2 d'une cellule.

Le type en est représenté par l'appareillage de WARBURG qui réunit toutes ces qualités.

8) Nécessité d'une coloration vitale de la cellule pour déceler l'action toxique possible de l'ion expérimenté ; à cet égard, un des meilleurs colorants vitaux est le rouge neutre en milieu alcalin.

Il y a lieu également de faire une coloration vitale de la suspension cellulaire avant toute expérience d'échanges, pour se rendre compte de la pureté de cette suspension (présence de bactéries, de cellules mortes, etc...).

9) Enfin, nécessité de faire des cultures avec les cellules qui ont changé leurs ions et de comparer la vitesse et les modifications possibles de leur développement avec des cellules intactes.

Ces quatre dernières conditions marchent de pair ; en se complétant, en effet, elles permettent de déterminer l'action physiologique de l'ion qui a pénétré dans la cellule.

Telles sont les conditions expérimentales nombreuses qu'il est nécessaire d'observer rigoureusement si l'on veut obtenir un échange ionique raisonnable.

La plupart des expériences que nous rapportons ont été réalisées avec des cellules de levure. Avant d'aller plus loin, il convient de jeter un rapide coup d'œil sur leur structure et les substances minérales qu'elles contiennent.

Aperçu sommaire sur la structure de la cellule de levure

La cellule de levure se présente sous forme de masses ovoïdes dont les dimensions vont de 4 à 8 μ selon les conditions de culture. L'examen montre qu'elle est hétérogène ; on y distingue en effet :

La membrane : Elle est épaisse ; aussi, la cellule est-elle robuste et supporte facilement les variations de composition du milieu ambiant. Elle constitue donc à cet égard un très bon sujet d'étude.

Le noyau : Il a environ 1 μ . Peu visible à l'état vivant ; ou quand la cellule grandit, elle forme à un moment donné un ou deux bourgeons. Le noyau se divise en deux, et une partie du noyau entre dans le bourgeon tandis que l'autre partie reste dans la cellule mère.

Le cytoplasme : Il nous intéresse surtout par la nature de ses enclaves. A cet égard on peut distinguer :

1) *Les corpuscules métachromatiques* qui peuvent fixer les colorants basiques sur la cellule vivante, alors que le fond du cytoplasme reste incolore. On peut ainsi admettre que ces corpuscules renferment une substance acide insoluble qui fixe les bases.

2) *Les enclaves à glycogène.*

3) *Les globules de graisse neutre.*

Composition minérale de la cellule de levure

Des analyses répétées nous ont donné la composition moyenne suivante:

Pour 100 grammes de cellules de levure fraîche :

Poids sec :	28 gr. 15	Cl :	traces
K :	0 gr. 880	Na :	traces
Ca :	0 gr. 340	Mg :	traces
P :	0 gr. 256	Fe :	traces

ce qui donne :

Pour 100 grammes de cellules de levure sèche :

K :	3 gr. 126	Na :	< 0 gr. 010
Ca :	1 gr. 208	Mg :	< 0 gr. 010
P :	0 gr. 909	Fe :	< 0 gr. 010
Cl :	< 0 gr. 010		

D'après LINTNER, la composition minérale de la levure de bière basse de Munich est la suivante : (par kilogr. sec, en millièmes d'ion-gramme) :

K :	654	Mg :	140
Ca :	82	Po ⁴ :	1610

D'après le même auteur, la teneur en constituants minéraux de la levure de bière basse de Weißenstaphan est :

K :	444	Mg :	150
Na :	58	Po ⁴ :	1810
Ca :	217		

Cette composition en substances minérales de la cellule de levure n'est pas fixe et varie avec la composition du milieu où elle est cultivée. C'est pourquoi il y a intérêt à opérer sur

un même lot de cellules cultivées toujours dans les mêmes conditions.

On voit que la cellule de levure ne contient qu'un seul anion : le phosphore. Cet élément se trouve dans la cellule à l'état d'ions Po^4 . On sait qu'il est engagé dans de nombreuses combinaisons organiques (*protéïnes* : acide créatine phosphorique ; *nucléïnes* : acide nucléique ; *lipoïdes* ; *héxoses* : éthers héxoses phosphoriques).

Notons également la forte quantité de potassium contenue dans la levure. On sait que cet élément est doué de propriétés radioactives ; dans certains cas (cœur), on a montré qu'on peut le remplacer par d'autres éléments radioactifs (radium) en quantité équivalente.

Expériences de lavage à l'eau distillée

Faisons une suspension cellulaire avec 25 gr. de levure bien pure dans 1 litre d'eau distillée rigoureusement pure et neutre.

Agitons notre suspension de levure dans un ballon Pasteur pendant une heure. Centrifugeons dans plusieurs tubes. Le culot est constitué par les cellules qui se sont déposées, et on obtient un liquide surnageant bien clair, dont nous recueillons ainsi environ 1 litre.

Réduisons le volume par évaporation lente jusqu'à 100 cc. ; une portion du liquide ainsi réduit est traitée par quelques gouttes du réactif de CARNOT (1) ; aucun précipité, pas le

(1) Réactif de Carnot pour les sels de potassium :

Liqueur a. — Dissoudre à une douce chaleur 10 grammes de sous-nitrate de bismuth dans 30 centicubes d'acide chlorhydrique fumant. Laisser refroidir ; compléter à 100 centicubes avec de l'alcool à 90° et après quelques heures de repos, filtrer.

Liqueur b. — Dissoudre 20 grammes d'hyposulfite de sodium dans 100 centicubes d'eau.

Au moment de s'en servir, mélanger exactement 1 centicube de liqueur a et 0,5 centicube de liqueur b, ajouter 10 à 15 centicubes d'alcool à 90° ; s'il se produit un trouble, ajouter goutte à goutte, en agitant de la liqueur a, jusqu'à ce qu'il disparaisse. Une ou deux gouttes d'une solution potassique, ajoutées à ce mélange, donnent un précipité jaune d'hyposulfite double de potassium et de bismuth.

moindre trouble n'apparaît. Cette réaction permet d'affirmer l'absence de l'ion K dans la liqueur. Une autre portion du même liquide est traitée par une solution d'oxalate d'ammoniaque : on note un très faible louche, incompatible avec tout dosage. Cette réaction permet d'affirmer la présence de traces indosables de calcium dans la liqueur qui a été en contact avec la cellule de levure.

Cette expérience a été refaite maintes fois, soit avec des cellules de levure, soit avec des algues et a donné les caractères négatifs que nous venons de signaler.

Nous pouvons donc conclure que le lavage avec de l'eau distillée neutre d'une cellule de levure ou d'une cellule d'algue n'entraîne que des quantités totalement indosables de matières salines.

Nous insistons à dessein sur l'obligation de se servir d'eau rigoureusement distillée et neutre.

En effet, la même expérience réalisée avec une eau circulant dans les conduites du laboratoire, donne des résultats un peu différents. En effet, après une agitation d'une heure au contact des cellules de levure, on obtient, après centrifugation et réduction de volume, une liqueur qui essayée avec le réactif de CARNOT, laisse apparaître un très léger trouble indiquant la présence de potassium, mais en quantité encore indosable.

La différence entre l'expérience réalisée avec de l'eau distillée et celle faite avec de l'eau ordinaire ne peut s'expliquer que par la présence des impuretés contenues dans cette dernière eau (chlorures, calcium, plomb, pH différent de 7).

CAPITRE III

ETUDE DES IONS MONOVALENTS

ETUDE DE L'ION AMMONIUM

Les ions monovalents présentent, dans les recherches expérimentales, des cas très simples en théorie et très compliqués en pratique. L'ion sodium a été employé dans une foule d'expériences ; malheureusement c'est, d'une part, un ion difficile à doser quantitativement, d'autre part, un ion aberrant ; l'ion sodium doit être considéré comme « hydratisé », entouré d'une robe de molécules d'eau, d'où une grande lenteur de diffusion, une grande difficulté de pénétration de l'ion dans les tissus ; l'expérience montre effectivement que les échanges dus à l'ion sodium sont très faibles. L'ion lithium, vraisemblablement aussi « hydratisé » que l'ion sodium, est plus difficile encore à doser. L'ion potassium se comporte normalement ; mais il existe déjà dans les levures, en sorte qu'il ne peut déplacer que le calcium, métal bivalent ; l'effet d'échange est faible, et par conséquent peu accessible à une étude expérimentale quantitative. Le rubidium et le césium sont des métaux difficiles à se procurer, et dont la séparation quantitative d'avec le potassium est très difficile. L'ion ammonium seul est d'une étude relativement facile ; il est connu comme pénétrant aisément à l'intérieur de la cellule ; il se dose d'une façon spécifique soit au moyen du réactif de NESSLER, soit, d'une façon plus précise encore, par oxydation au moyen de l'hypobromite de Na et transformation en N^2 gazeux, qui se dose manométriquement avec beaucoup de facilité.

Pour toutes ces raisons, l'ion NH^4 est le type des ions monovalents pour l'étude des échanges ioniques.

Expérience de départ

Mettons 10 gr. de cellules de levure de boulanger bien fraîche, soigneusement lavée à l'eau distillée au contact de 100 cc. d'une solution de chlorure d'ammonium $\frac{\text{N}}{100}$; au bout d'une heure d'agitation, la suspension cellulaire est centrifugée. On obtient un liquide clair surmontant le culot cellulaire.

Faisons 3 parts égales de ce liquide :

A la première ajoutons quelques gouttes de réactif de CARNOT : aussitôt apparaît un précipité jaune indiquant la présence de potassium dans la liqueur.

La deuxième est traitée par quelques gouttes d'une solution d'oxalate d'ammoniaque ; un louche blanc qui s'accroît au point de devenir un véritable précipité se développe ; ce liquide contient du calcium.

Enfin, la troisième portion diluée à 10 fois son volume est traitée par le réactif de NESSLER (1) ; il se produit une coloration moins intense que celle de la solution de Cl NH^4 intacte et diluée au même taux.

Auparavant, la solution de Cl NH^4 qui n'a pas été mise au contact de la cellule de levure a montré toute absence de potassium et de calcium au moyen des réactifs spécifiques de ces deux métaux.

Nous pouvons donc conclure, que lors du lavage d'une cellule de levure de boulanger avec une solution de Cl NH^4 , on observe les faits suivants :

1) Apparition dans la solution des ions K et Ca ;

(1) *Réactif de Nessler* : Mettre dans un matras jaugé de 100 centicubes, 1 gr. 35 de HgCl_2 pur très finement pulvérisé. Ajouter 20 centicubes environ d'eau distillée, puis 3 gr. 6 de IK pur. Agiter jusqu'à dissolution et compléter le volume à 100 centicubes. Ajouter 30 centicubes de lessive de soude pure (de la concentration de la lessive des savonniers).

2) Fixation de l'ion NH^4 .

Données quantitatives.

Avant de donner le protocole opératoire des expériences quantitatives, il convient d'exposer les méthodes analytiques utilisées pour le dosage des ions qui s'échangent.

Dosage de l'ion NH^4 .

Le procédé colorométrique au réactif de NESSLER est vraiment trop imprécis pour servir de dosage rigoureux de l'ion NH^4 , et ne peut être utilisé qu'à titre d'indication pour comparer grossièrement deux liquides de titres différents. C'est pourquoi nous lui avons substitué la méthode gazométrique de KNAPP que nous pouvons transformer en micro-méthode en utilisant l'appareillage de WARBURG.

Ce procédé gazométrique utilise l'action de l'hypobromite de sodium sur l'ammoniaque :



La méthode consiste à mesurer le dégagement d'azote.

On place dans l'espace annulaire de la petite fiole conique de l'appareil de WARBURG 1 centicube de la solution d'ammonium (dont la concentration est toujours faible, de l'ordre de

$\frac{\text{N}}{100}$ en général) et on ajoute 0 cc. 5 de la solution d'hypobromite de soude préparée extemporanément.

Le récipient bouché à l'émeri, puis monté sur son manomètre est plongé dans le thermostat. On agite quelques minutes jusqu'à ce que soit atteint l'équilibre de température entre le contenu du micro-manomètre et le liquide du thermostat. A ce moment, on fait basculer la solution d'hypobromite de soude dans la solution d'ammonium ; ce mélange provoque un dégagement gazeux d'azote qu'il suffit de lire sur le manomètre différentiel.

Il reste à multiplier le volume lu par la constante propre du récipient pour avoir le volume en millimètres cubes d'azote dégagé.

La sensibilité de ces mesures est de l'ordre de 1 p. 100.

Dosage du potassium.

Précipité à l'état de nitrite sodico-cobaltico-potassique au moyen du réactif cobaltinitrite de sodium (méthode de KRAMER et TISDALL).

On titre par le permanganate l'acide nitreux du précipité et, de la quantité d'acide nitreux on déduit le potassium.

Quant on veut doser le potassium dans une solution contenant un sel d'ammonium, il est nécessaire de le chasser par ébullition de la solution en présence de magnésie, car l'ion NH^+ précipite avec le réactif au cobaltinitrite de soude.

Dosage du calcium.

Précipité à l'état d'oxalate de calcium. Le précipité est ensuite traité par l'acide sulfurique qui libère (CooH^2). L'acide oxalique formé est alors titré par le permanganate de potassium en présence d'acide sulfurique.

Dosage du chlore.

Dosé par la méthode de CHARPENTIER-VOLHARD.

Calcul des erreurs sur les mesures

1) Erreur due à l'hygroscopicité de la masse de cellules de levure, susceptible de diluer la solution de contact. Comme on opère, en général, avec une masse faible de cellules et avec un volume important de liquide, on peut affirmer que cette erreur est inférieure à 1 %.

2) Erreur provenant de l'adsorption des ions par le verre des récipients. Les expériences de DEVAUX et AUBEL se faisaient sur des surfaces de verre considérables (plus de 18.000 centimètres carrés). Dans nos expériences, cette surface était très notablement inférieure, et les essais que nous avons faits, nous ont montré que les phénomènes d'adsorption ionique par les flacons utilisés étaient négligeables et n'entraînaient dans tous les cas, qu'une erreur inférieure à 1 % sur les résultats d'absorption ionique par la cellule vivante.

3) Erreurs de dosage :

- a) Sur le dosage de l'ion NH^+ : erreur de 2 %.
- b) Sur le dosage de l'ion K : erreur de 1 %.
- c) Sur le dosage de l'ion Ca : erreur de 1 %.

Les mesures montrent que, lors d'une même expérience, l'approximation est de 4 à 5 %.

Or, les différences physiologiques observées sont bien supérieures aux erreurs expérimentales.

Les méthodes de dosage des différents ions qui entrent dans la réaction étant connues, nous allons répéter l'expérience initiale, mais au lieu de nous contenter d'une simple approximation, nous allons doser la quantité d'ions NH^4 prise et les quantités de potassium et de calcium apparues dans la solution.

Dans un ballon, nous mettons 10 grammes de cellules de levure de boulanger fraîche et pure, auxquels nous ajoutons 500 centicubes de $\text{Cl NH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$.

Après une heure d'agitation, nous centrifugeons et dans le liquide recueilli nous dosons les ions NH^4 , K et Ca.

Le tableau suivant montre les valeurs absolues de l'échange ionique (dosages dans la solution).

TABLEAU I

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de $\text{ClNH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$
(Valeurs absolues dans la solution)

Levure	Solution $\text{ClNH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$	N^3 pris en cc^3	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	K + Ca	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
10 gr.	500 cc^3	— 9,1	+ 20,1	+ 7,8	27,9	2,6

L'interprétation de ce tableau est plus aisée si nous exprimons les résultats obtenus en cent-millièmes d'ion-gramme par litre, la molécule de Ca comptant pour 2 ions.

TABLEAU II

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de $\text{ClNH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$
(Concentrations de la solution en cent-millièmes d'ion-gramme par litre)

Levure	Solution $\text{NH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$	(NH^4) initiale n_0	(NH^4) finale n_1	$n_1 - n_0$	$\frac{n_1}{n_0}$	(K)	(Ca)	$\frac{(\text{Ca})}{(\text{K})} +$	$\frac{(\text{K})}{(\text{Ca})}$
10	500	2000	1837	163	0,918	103,0	78,0	181,0	1,32

Quant à la concentration en ions Cl de la solution de ClAm elle n'a pas varié.

Le tableau II nous montre :

1) que la quantité d'ions NH^4 absorbée est assez importante (un peu plus de 8 %).

2) qu'il apparaît davantage d'ions K que d'ions Ca.

3) que la quantité d'ions NH^4 prise est à peu près équivalente aux quantités d'ions K et Ca sorties.

Dans certains cas, on arrive parfois à une égalité presque absolue entre ce qui entre dans la cellule et ce qui en sort. Voici un bel exemple d'un tel équilibre.

TABLEAU III

Tableau-type des échanges d'ions entre cellules de levure
et solution de ClAm $\frac{N}{100}$

(Concentrations de la solution en cent-millièmes d'ion-gramme par litre)

Levure	Solution ClAm $\frac{N}{100}$	(NH ⁴) initiale n_0	(NH ⁴) finale n_1	$n_0 - n_1$	$\frac{n_1}{n_0}$	(K)	(Ca)	$\frac{(K)}{(Ca)}$
10 gr 500 cc ³	1000	928,6	71,4	0,929	47,0	25,0	72,0	2,9

Donc, au cours du lavage d'une cellule de levure vivante avec une solution de ClNH^4 , on observe les faits suivants :

1) La concentration en ions Cl ne varie pas.

2) La concentration n en ions NH^4 de la solution diminue de n_0 à n_1 .

3) Il apparaît dans la solution des ions K et Ca en quantité telle que la somme de ces deux ions, soit, aux erreurs d'expériences près, équivalente à la quantité $n_0 - n_1$ d'ions NH^4 disparue.

Signalons enfin pour être complet, que les recherches dans la solution extérieure de l'ion P qui aurait pu être abandonné par la cellule de levure sont toujours restées négatives.

Influence de la quantité d'ions NH^4 sur la valeur des échanges

Prenons 10 grammes de levure de boulanger bien fraîche que nous agitions pendant une heure au contact de 50 cc. d'une solution $\frac{N}{100}$ de chlorure d'ammonium.

Dosons dans la liqueur la quantité de NH^4 prise, et les quantités de potassium et de calcium lachées par la cellule de levure.

Ceci fait, répétons l'expérience avec dix nouveaux grammes de levure que nous mettrons en contact de 100 centicubes de CINH^4 toujours $\frac{\text{N}}{100}$, puis de 250 centicubes et enfin de 500 centicubes.

L'analyse des liquides recueillis après centrifugation est indiquée dans le tableau suivant :

TABLEAU IV

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution CINH^4 $\frac{\text{N}}{100}$
Influence de la quantité d'ions NH^4 sur la valeur des échanges.
(Valeurs absolues dans la solution)

Levure en gr.	Solution CINH^4 $\frac{\text{N}}{100}$ en cc ³	N ² pris en cc ³	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	Ca +	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
10	50	0,35	1,2	0,22	1,42	5,4
10	100	0,70	2,3	0,40	2,70	5,7
10	250	2,5	8,0	1,0	9,0	8,0
10	500	4,0	9,1	2,5	11,6	3,6

En exprimant ces résultats en 10^{-2} millimolécules dans un tableau et en cent-millièmes d'ion-gramme dans un autre, nous aurons :

TABLEAU V

Echanges d'ions entre cellules de levure et solutions de CINH^4 $\frac{\text{N}}{100}$
Influence de la quantité d'ions NH^4 sur la valeur des échanges
(Valeurs en 10^{-2} millimolécules)

Levure en gr.	Solution CINH^4 $\frac{\text{N}}{100}$ en cc ³	NH ⁴ Initial	NH ⁴ final	$\frac{\text{NH}^4 \text{ Final}}{\text{NH}^4 \text{ Init.}}$	$\frac{\text{NH}^4 \text{ final}}{\text{NH}^4 \text{ init.}}$	K	Ca	Ca +	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
10	50	50	46,88	0,94	3,12	3,2	1,1	4,3	2,9
10	100	100	93,76	0,94	6,24	5,9	2,0	7,9	2,9
10	250	250	227,7	0,91	22,3	20,5	5,3	25,8	3,8
10	500	500	464,3	0,93	35,7	23,5	12,5	36,0	1,9

TABLEAU VI

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution ClNH^4 $\frac{\text{N}}{100}$

*Influence de la quantité d'ions NH^4 sur la valeur des échanges
(Concentrations en 10^{-5} ion-gramme par litre de solution)*

Rapport Solution Levure	(NH^4) Init. n_0	(NH^4) Finale n_1	$\frac{n_1}{n_0}$	$\frac{n_1}{n_0}$	(K)	(Ca)	(Ca) + (K)	(K) (ca)
5	1 000	938	0,94	62	64	22	86	2,9
10	1 000	938	0,94	62	59	20	79	2,9
25	1 000	910	0,91	90	82	21	113	3,8
50	1 000	929	0,93	71	47	25	72	1,9

Ces tableaux confirment d'abord les résultats de l'expérience précédente, à savoir que la quantité d'ions NH^4 entrée dans la cellule est équivalente au point de vue moléculaire à la somme des ions K et Ca rejetés par la cellule.

De plus, et comme précédemment, la quantité de potassium déplacée est plus importante que celle de calcium. Cela se comprend, puisque, un ion monovalent (NH^4) déplace plus aisément un ion de même valence (K) que celui à valence double (Ca).

Enfin, et c'est là le caractère particulier de cette expérience, nous voyons qu'en offrant à la cellule des volumes de solution progressivement croissants (50, 100, 250, 500 centi-cubes) la levure en prend toujours la même portion (7 à 8 % environ).

Donc, lors du lavage d'une cellule de levure avec des solution de ClNH^4 à volume croissant, la concentration en ions NH^4 de la solution diminue d'une quantité indépendante en première approximation des quantités de solution mises en présence, de telle sorte que le coefficient de partage $\frac{n_1}{n_0}$ est constant.

La concentration initiale n_0 étant constante, le coefficient de partage est lui-même fixe.

La quantité d'ions déplacée est proportionnelle à la quantité d'ions présente dans la solution.

**Influence de la concentration en ions NH^4
sur la valeur des échanges ioniques**

Répetons point par point l'expérience précédente, mais, au lieu d'utiliser une solution de $\text{CINH}^4 \frac{\text{N}}{100}$, nous allons employer une solution 2 fois plus concentrée, soit $\frac{2\text{N}}{100}$.

Prenons donc 4 ballons ; dans chacun nous allons mettre 10 gr. de levure bien fraîche ; puis, nous ajouterons au premier ballon 50 cc. de la même solution de $\text{CINH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$, au second 100 cc., au troisième 250 cc., au quatrième 500 cc. de la même solution $\frac{2\text{N}}{100}$.

Au bout d'une heure d'agitation nous analysons les liquides de contact ; les résultats sont exprimés en valeur absolue dans le tableau suivant :

TABLEAU VII

*Echanges d'ions entre cellules de levure et solution $\text{CINH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$
Influence de la concentration sur la valeur des échanges
(Valeurs absolues dans la solution)*

Levure en gr.	Solution $\text{CINH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$ en cc ³ .	Na pris en cc ³	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	Ca + K	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
10	50	1,05	2	0,6	2,6	3,3
10	100	1,8	4	1,2	5,2	3,3
10	250	4,5	7	3	10	2,3
10	500	7,5	13	4	17	3,2

Exprimant ces résultats en 10^{-2} millimolécules dans le tableau VIII, puis en cent-millièmes d'ion-gramme dans le tableau IX, nous avons :

TABLEAU VIII

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution ClNH^4 $\frac{2\text{N}}{100}$

Influence de la concentration sur la valeur des échanges
(Valeurs en 10^{-2} millimolécules)

Levure	Solution ClNH^4 $\frac{2\text{N}}{100}$	NH_4 Initiale	NH_4 finale	NH_4 Fin. $\frac{\text{NH}_4}{\text{NH}_4}$ IonL.	NH_4 Fin. $\frac{\text{NH}_4}{\text{NH}_4}$ IonL.	K	Ca	K + Ca	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
10	50	100	90,63	0,91	9,37	5,3	3,1	8,4	1,7
10	100	200	184,0	0,92	16,0	9,0	6,2	15,2	1,4
10	250	500	460,0	0,92	40,0	21,2	15,3	36,5	1,4
10	500	1000	933,0	0,93	67,0	32,7	20,0	52,7	1,6

TABLEAU IX

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de ClNH^4 $\frac{2\text{N}}{100}$

Influence de la concentration sur la valeur des échanges
(Concentration en 10^{-5} ion-gramme par litre de solution)

Rapport Solution Levure	NH_4 Initiale n_0	NH_4 finale n_1	$\frac{n_1}{n_0}$	$n_0 - n_1$	(K)	(Ca)	$\frac{(\text{Ca})}{(\text{K})}$	$\frac{(\text{K})}{(\text{Ca})}$
5	2000	1812	0,91	188	106	60	166	1,7
10	2000	1840	0,92	160	90	62	152	1,4
25	2000	1840	0,92	160	85	61	146	1,4
50	2000	1866	0,93	134	65	40	105	1,6

Pour apprécier l'influence de la concentration sur la valeur des échanges entre les ions NH_4 de la solution et les ions K et Ca de la levure, il nous faut comparer ce tableau IX (solution $\frac{2\text{N}}{100}$) au tableau VI (solution $\frac{\text{N}}{100}$). Dans ces deux expériences, en effet, on a utilisé un poids égal d'un même lot de levure ; seules différaient les concentrations des solutions, dont l'une était le double de l'autre.

La comparaison de ces deux tableaux nous montre que :

1) Le coefficient de partage $\frac{n_1}{n_0}$ a la même valeur ; la quantité d'ions NH_4 absorbée par la cellule étant dans les deux cas de l'ordre de 8 %.

2) Il en résulte que la quantité d'ions NH_4 absorbée ($n_0 - n_1$) est doublée, quand on double les concentrations.

3) Du fait de la constance de $\frac{n_1}{n_0}$, il sort davantage de potassium et de calcium de la cellule, de telle sorte que la quantité d'ions NH^+ entrée soit toujours égale à la quantité K et Ca sortie.

$$(n_0 - n_1) = (\text{K}) + (\text{Ca})$$

4) La concentration en ions NH^+ augmentant, la cellule abandonne de moins en moins son potassium, ce dernier ion prédominant toujours cependant sur le calcium dans la solution : $\frac{(\text{K})}{(\text{Ca})} > 1$.

Ces résultats se retrouvent entièrement si, toujours avec le même lot de levure, on emploie une solution de CINH^+ $\frac{4\text{ N}}{100}$, soit donc 2 fois plus concentrée que dans l'expérience précédente, et par suite 4 fois plus que dans la première expérience.

TABEAU X

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de CINH^+ $\frac{4\text{ N}}{100}$
Influence de la concentration sur la valeur des échanges
(Valeurs absolues dans la solution)

Levure en gr.	Solution CINH^+ $\frac{4\text{ N}}{100}$ en cc ³	N° pris en cc ³	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	Ca K +	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
10	50	2,1	3,3	4,4	7,7	0,75
10	100	4,2	5,5	5,0	10,5	1,1
10	250	8,8	9,9	8,0	17,9	1,2
10	500	16,5	23,8	20,0	43,8	1,1

TABEAU XI

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de CINH^+ $\frac{4\text{ N}}{100}$
Influence de la concentration sur la valeur des échanges
(Valeurs en 10 - 2 millimolécules)

Levure	Solution CINH^+ $\frac{4\text{ N}}{100}$	NH^+ initiale	NH^+ finale	$\frac{\text{NH}^+ \text{ finale}}{\text{NH}^+ \text{ initiale}}$	$\frac{\text{NH}^+ \text{ initiale}}{\text{NH}^+ \text{ finale}}$	K	Ca	Ca K +	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
10	50	200	182	0,90	1,1	8,4	14,0	22,4	0,60
10	100	400	367	0,91	1,1	14,2	25,3	39,5	0,56
10	250	1000	920	0,92	1,1	25,3	39,8	65,1	0,63
10	500	2000	1850	0,92	1,1	61,2	101,0	162,2	0,60

TABLEAU XII

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de ClNH^4 $\frac{4\text{ N}}{100}$
Influence de la concentration sur la valeur des échanges
(Concentration en 10^{-5} ion-gramme par litre de solution)

Rapport Solution Levure	(NH^4) Initiale n_0	(NH^4) finale n_1	$\frac{n_1}{n_0}$	$\frac{n_1}{n_0}$	(K)	(Ca)	(Ca) + (K)	$\frac{(\text{K})}{(\text{Ca})}$
5.	4000	3640	0,90	360	178	280	458	0,60
10	4000	3640	0,91	360	142	253	395	0,56
25	4000	3680	0,92	320	101	159	260	0,63
50	4000	3700	0,92	300	120	202	322	0,60

L'analyse de ce tableau nous conduirait aux mêmes observations que précédemment. Il est inutile d'y revenir. Nous ferons simplement remarquer, que la quantité de calcium sortie de la cellule est dans cette expérience moléculairement plus élevée que celle de potassium $\frac{(\text{K})}{(\text{Ca})} = 0,6$. On pourrait penser que la cellule est épuisée en K ; il n'en est rien, car il reste encore une notable portion de K dans la levure (10 gr. de levure fraîche contiennent environ 88 mgr. de K).

Nous résumons dans le tableau suivant les résultats les plus démonstratifs des échanges de l'ion NH^4 avec les ions K et Ca intra-cellulaires.

TABLEAU XIII

Résumé des échanges d'ions entre cellules de levure et solutions de ClNH^4
(Concentration en 10^{-2} ion-gramme par litre de solution)

Rapport Solution Levure	(NH^4) Initiale n_0	(NH^4) finale n_1	$\frac{n_1}{n_0}$	$\frac{n_1}{n_0}$	(K)	(Ca)	(Ca) + (K)	$\frac{(\text{K})}{(\text{Ca})}$
5	1000	938	0,94	62	64	22	86	2,9
10	—	938	0,94	62	59	20	79	2,9
50	—	928	0,93	72	47	25	72	1,9
5	2000	1812	0,90	188	106	60	166	1,7
10	—	1840	0,92	220	90	62	152	1,4
25	—	1840	0,92	160	85	61	146	1,4
5	4000	3640	0,90	360	178	280	458	0,60
10	—	3640	0,91	360	142	253	395	0,56
50	—	3700	0,92	300	120	202	322	0,60

Conclusions :

1) Lors de l'échange d'un ion monovalent (NH^4) contre un ion monovalent (K) la quantité d'ion déplacée est proportionnelle à la concentration de l'ion introduit.

2) Lors de l'échange d'un ion monovalent (NH^4) contre un ion bivalent (Ca), les déplacements importants ne s'observent qu'en solution concentrée.

Il est à noter — et ceci sert de vérification, — que les variations de la composition minérale de la levure se font quantitativement en sens inverse de celles qui se passent dans la solution de contact.

C'est ce que montre le tableau suivant :

TABLEAU XIV

*Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de ClNH^4
Comparaison entre les variations de la composition de la levure
et celle de la composition de la solution
(Valeurs en 10^{-5} ion-gramme)*

Variations de composition de :	K	Ca	K + Ca	NH^4
Levure (100 gr. frais)	— 162	— 85	— 247	—
Solution (1 l. $\text{ClNH}^4 \frac{\text{N}}{100}$)	+ 154	+ 85	+ 239	— 250

ETUDE DE L'ION POTASSIUM

Nous avons vu que la cellule de levure contenait uniquement les cations K et Ca.

Etudions maintenant rapidement ce qui se passe lorsqu'on met la levure au contact d'une solution dont un ion est commun avec un de ceux de la cellule.

Puisque nous restons sur le terrain des ions monovalents, nous allons utiliser un sel de potassium soluble en milieu neutre.

Faisons donc une suspension cellulaire avec 500 centicubes d'une solution $\frac{\text{N}}{100}$ de KCl auxquels nous ajoutons 10 gr. de levure de boulanger pure et fraîche.

Au bout d'une heure d'agitation, nous centrifugeons ; le liquide recueilli traité par une solution d'oxalate d'ammoniaque

précipite légèrement : du calcium est apparu dans la solution.

Si, en effet, nous analysons quantitativement le liquide de centrifugation, nous obtenons les résultats suivants :

TABLEAU XV

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution KCl $\frac{N}{100}$
(Valeurs absolues dans la solution)

Levure en gr.	Solution de KCl $\frac{N}{100}$ en cc ³	K pris en mmgr.	Ca sorti en mmgr.
10	500	— 4,4	+ 2,5

Quant à la teneur en chlore de la solution elle n'a pas varié au cours du lavage. Si on exprime ces résultats en 10^{-2} millimolécules, la molécule de Ca comptant pour 2 ions, nous avons :

TABLEAU XVI

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution KCl $\frac{N}{100}$
(Valeurs en 10^{-2} millimolécules dans la solution)

Levure en gr	KCl $\frac{N}{100}$ en cc ³	K pris	Ca sorti
10	500	— 11,2	+ 12,7

Donc, nous pouvons dire, que, au cours du lavage d'une cellule de levure par une solution de chlorure de potassium :

- 1) La concentration en ions Cl ne varie pas.
- 2) L'ion K pénètre dans la cellule.
- 3) La cellule lâche son ion Ca.

4) Il y a équivalence, au point de vue moléculaire entre la quantité de K disparu et celle de Ca apparu.

Ces conclusions sont vérifiées par le fait que la composition minérale de la cellule de levure a varié dans des proportions à peu près égales à celles de la solution, mais naturellement en sens inverse, ainsi que le montre le tableau suivant.

TABLEAU XVII

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de KCl
Comparaison entre les variations de la composition de la levure
et celles de la composition de la solution
(Valeurs en 10^{-2} millimolécules)

Variation de composition de :	K	Ca
Levure (10 gr.)	+ 10,8	— 14,5
Solution (500 cc ClK $\frac{N}{100}$)	— 11,2	+ 12,7

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution KCl.
Influence de la concentration

Pour étudier l'influence de la concentration en ions K sur l'intensité du déplacement de l'ion Ca, nous allons répéter l'expérience IV où nous avons étudié l'action de la concentration en ions NH^4 sur la valeur des échanges ioniques.

Dans 4 ballons nous mettons 10 gr. de cellules de levure ; puis, ajoutons à chacun de ces ballons 500 centicubes d'une solution de KCl $\frac{N}{100}$ dans l'un, $\frac{2N}{100}$ dans l'autre, $\frac{4N}{100}$ dans le troisième, enfin $\frac{5N}{100}$ dans le dernier.

Nous obtenons ainsi 4 ballons de suspension cellulaire dont les concentrations en ions K sont, progressivement croissantes.

Au bout d'une heure d'agitation nous analysons les liquides de contact, et nous obtenons les résultats suivants :

TABLEAU XVIII

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de KCl
Influence de la concentration en ions K
(Valeurs absolues dans la solution)

Levure en gr.	Solution de KCl (500 cc)	K pris en mmgr.	Ca sorti en mmgr.
	$\frac{N}{100}$		
10	$\frac{2N}{100}$	6,24	2,5
	$\frac{4N}{100}$		
10	$\frac{5N}{100}$	12,3	5,7
	$\frac{5N}{100}$		
10	$\frac{5N}{100}$	33,1	18,1
	$\frac{5N}{100}$		
10	$\frac{5N}{100}$	46,8	25,4

TABLEAU XIX

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution de KCl
Influence de la concentration en ions K
(Valeurs en 10^{-5} ion-gramme par litre de solution)

Rapport Solution Levure	n_0 initiale (K)	n_1 finale (K)	$\frac{n_1}{n_0}$	$\frac{n_1}{n_0}$	(Ca)
50	1000	978	0,97	32	25
50	2000	1937	0,96	63	57
50	4000	3830	0,96	170	181
50	5000	4759	0,97	241	254

Ce dernier tableau nous montre que :

1) L'ion K de la solution n'arrive à produire des déplacements sensibles du calcium de la cellule qu'en solution concentrée, et semble ainsi incapable de le déplacer en solution très étendue.

2) Le coefficient de partage $\frac{n_1}{n_0}$ a une valeur plus faible avec l'ion K qu'avec l'ion NH_4^+ .

Cela se conçoit, si on songe que dans ce deuxième cas, l'ion NH_4^+ a à déplacer les ions K et Ca, tandis que dans le premier cas, l'ion K ne peut déplacer que Ca.

3) Il est à noter que la quantité de calcium déplacée par NH_4^+ (Tableau XIII) est à peu près exactement la même que celle qui est déplacée par l'ion K (Tableau XIX).

En résumé, nous retrouvons les mêmes résultats en opérant avec l'ion K qu'avec l'ion NH_4^+ .

ETUDE DE L'ION SODIUM

Après avoir étudié les ions NH_4^+ et K, nous nous sommes adressés à l'ion Na, dont on connaît l'importance physiologique. Nous avons vu d'autre part que la cellule de levure était exempte de sels de sodium. Il était donc intéressant de savoir comment se comportait cet ion vis-à-vis de la cellule quant aux phénomènes des échanges.

Le sel utilisé fut le ClNa, car il réalise les conditions d'expérience exposées dans le chapitre II (soluble à pH = 7).

L'ion Na a été dosé par la méthode de BLANCHETIÈRE où il est précipité à l'état d'acétate triple d'uranium, de magnésium et de sodium, qu'il suffit de peser.

Au contact de 200 centicubes d'une solution ClNa $\frac{2N}{100}$, agitions pendant une heure dix grammes de cellules de levure de boulanger.

Après centrifugation, analysons notre solution ; nous obtenons les valeurs suivantes :

TABLEAU XX

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution NaCl $\frac{2N}{100}$
(Valeurs absolues dans la solution)

Levure en gr.	Solution NaCl $\frac{2N}{100}$ en cc ³	Na pris en mmgr.	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	Ca + K en mmgr.	$\frac{K}{Ca}$
10	200	— 4	+ 2,8	+ 4	+ 6,8	0,7

Il est préférable, comme dans les cas précédents, d'exprimer ces résultats en 10-2 millimolécules, la molécule de Ca comptant toujours pour deux ions.

TABLEAU XXI

Echanges d'ions entre cellules de levure et solution ClNa $\frac{2N}{100}$
(Valeurs en 10-2 millimolécules dans la solution)

Levure en gr.	Solution NaCl $\frac{2N}{100}$ en cc ³	Na sorti	K sorti	Ca sorti	Ca + K	$\frac{K}{Ca}$
10	200	17,3	7,1	20,2	27,3	0,35

Ajoutons enfin que au cours du lavage de la cellule par la solution de ClNa, la teneur en Cl n'a pas varié.

Donc, lors du lavage d'une cellule de levure avec une solution de chlorure de sodium, on observe les faits suivants :

- 1) La concentration en ions Cl ne varie pas.
- 2) L'ion Na seul pénètre dans la cellule.
- 3) Il y a libération des ions K et Ca.

4) Ce déplacement se fait équimoléculairement.

Nous arrivons ainsi aux mêmes conclusions que celles qui concernent l'ion NH^4 .

Est-ce à dire qu'il n'y ait aucune différence dans le pouvoir de déplacement de ces deux ions ?

Pour le savoir, nous pourrions nous contenter de comparer les tableaux des déplacements effectués par l'ion Na à ceux relatifs à l'ion NH^4 .

Mais il est préférable de faire une expérience avec un même lot de levure dont une partie est mise en présence de l'ion NH^4 , l'autre au contact de l'ion Na.

Prenons donc deux ballons contenant chacun dix grammes de cellules de levure bien fraîche ; dans le premier, ajoutons 200 centicubes de $\text{CINH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$ et dans le second, ajoutons le même volume d'une solution de $\text{ClNa} \frac{2\text{N}}{100}$.

L'analyse de ces liqueurs après une heure de contact nous donne :

TABLEAU XXII

*Pouvoirs de déplacement respectifs des ions NH^4 et Na
(Valeurs absolues dans les solutions)*

	Levure en gr.	Na pris en mmgr.	N^2 pris en cc ³	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	K + Ca en mmgr.	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
200 cc $\text{CINH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$	10	0	— 48,1	+ 12,6	+ 12,4	+ 25,0	1
200 cc $\text{ClNa} \frac{2\text{N}}{100}$	10	— 4	0	+ 2,8	+ 4,0	+ 6,8	0,7

TABLEAU XXIII

*Pouvoirs de déplacement respectifs des ions NH^4 et Na
(Valeurs en 10 — 2 millimolécules dans les solutions)*

	Levure en gr.	Na pris	NH^4 pris	K sorti	Ca sorti	K + Ca	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
200 cc $\text{CINH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$	10	0	— 85,9	+ 32,3	+ 62	+ 94,3	0,34
200 cc $\text{ClNa} \frac{2\text{N}}{100}$	10	17,3	0	+ 7,1	+ 20,2	+ 27,3	0,35

Ce dernier tableau nous montre que le pouvoir de déplacement de l'ion NH^4 est près de 4 fois plus fort que celui de l'ion Na.

L'ion Na semble entrer difficilement dans la cellule ; ceci doit tenir vraisemblablement au fait que cet ion est trop gros. Il se peut en effet que l'ion Na entraînant avec lui des molécules H_2O devienne trop gros pour franchir les pores cellulaires.

A l'appui de cette hypothèse (MOND, 1928) il est possible de citer un grand nombre de faits, les uns physiques : Na diffuse beaucoup plus lentement que l'ion K et que l'ion NH^4 ; les autres chimiques ; la plupart des sels de sodium cristallisent avec plusieurs molécules d'eau ; enfin des faits biologiques : l'imperméabilité au cation Na se retrouve chez les cellules les plus diverses : cellules des Vertébrés (GENAUD, 1927), des Invertébrés (BIALASZEWICZ, 1928), des Végétaux supérieurs, des algues marines (GÉNEVOIS et GENAUD, 1929).

Mélange d'ions Na et d'ions NH^4

Que se passe-t-il maintenant quand on offre à la cellule un mélange d'ions NH^4 et d'ions Na ?

Pour le savoir, faisons une suspension cellulaire de dix grammes de levure avec 200 centicubes de $\text{ClNH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$ et 200 centicubes de $\text{ClNa} \frac{2\text{N}}{100}$.

Au bout d'une heure d'agitation, nous obtenons les résultats suivants :

TABLEAU XXIV

Echanges d'ions entre cellules de levure et une solution de :

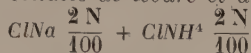


(Valeurs absolues dans la solution)

Levure en gr.	$\text{ClNa} \frac{2\text{N}}{100}$ en cc ³	$\text{ClNH}^4 \frac{2\text{N}}{100}$ en cc ³	Na pris en mmgr.	N^3 pris en cc ³	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	K + Ca en mmgr.	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
10	200	200	— 2,3	— 14,1	+ 7,3	+ 5,8	+ 13,1	1,2

TABLEAU XXV

Echanges entre cellules de levure et une solution de :



(Valeurs en 10^{-2} millimolécules dans la solution)

Levure en gr.	ClNa	ClNH ⁴	Na pris	NH ⁴ pris	K sorti	Ca sorti	K + Ca	$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$
	$\frac{2\text{N}}{100}$	$\frac{2\text{N}}{100}$						
	en cc ³	en cc ³						
10	200	200	10,2	25,2	18,9	29,1	48,0	0,64

En comparant ce dernier tableau au tableau XXII, nous voyons que si la présence de l'ion NH^4 semble être sans effet sur le pouvoir de déplacement de l'ion Na (un peu diminué cependant), la présence de Na par contre a paralysé dans d'assez fortes proportions le pouvoir de déplacement de l'ion NH^4 .

Il se peut que ce phénomène tienne à une sorte d'antagonisme entre ces deux ions, dans lequel l'ion Na réaliserait le rôle de frein partiel mais réel sur le pouvoir de déplacement de l'ion NH^4 .

Il se peut que ce phénomène tienne à une sorte d'antagonisme entre ces deux ions, dans lequel l'ion Na réaliserait le rôle de frein partiel mais réel sur le pouvoir de déplacement de l'ion NH^4 .

Etat physiologique de la cellule après échange ionique

Ainsi que nous l'avons dit dans le chapitre II, il est nécessaire une fois l'échange ionique accompli, de vérifier l'état de la cellule, afin de savoir si cet échange a provoqué quelque modification morphologique ou fonctionnelle de la cellule.

Si cette constatation a peu d'importance pour des ions tels que K, NH^4 , Na, aliments ordinaires de la cellule, on conçoit qu'il en va tout autrement pour des ions réputés toxiques tels que Ag, Pb, Cu.

En ce qui concerne les trois ions monovalents que nous avons étudiés (NH^4 , K, Na), nous résumons dans les lignes suivantes les constatations faites sur les cellules de levure, l'échange ionique une fois accompli :

Aspect microscopique. — La cellule a sa forme conservée. Sa membrane n'est pas déformée; le protoplasme, le vacuome, ne présentent aucun signe de dégénérescence et sont parfaitement normaux.

Nous avons essayé de localiser électivement les ions NH_4^+ , K, Na; malgré toutes les réactions microchimiques proposées pour déceler ces ions dans la cellule, nous n'avons pu les mettre en évidence. Nous verrons qu'il en est tout autrement pour les cations Pb et Ag.

La coloration vitale enfin nous a montré que ces ions n'offraient aucune toxicité, ce que nous étions bien en droit d'attendre.

Intensité respiratoire, intensité de fermentation. — Mesurées avant et après échange, leurs valeurs n'ont subi, ni l'une ni l'autre de modifications, ainsi que le montre le tableau suivant :

TABLEAU XXVI

Intensité respiratoire et intensité de fermentation des cellules de levure avant et après échange ionique.

	H^2O	Solution de ClNH_4	Solution de ClNa	Solution de KCl
10^2 FCO_2 dans l'azote	10	9	8	9
	1,9	1,6	2,0	1,8

Cultures : les cultures des cellules faites sur gélose se sont développées avec la même vitesse que les cellules normales et leurs colonies présentaient les mêmes aspects macroscopiques et microscopiques.

ETUDE DE L'ION ARGENT

Prenons de la levure de boulanger bien fraîche que nous lavons plusieurs fois à l'eau distillée neutre jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus en présence de quelques gouttes d'une solution de nitrate d'argent. Cette purification est d'ailleurs assez rapide et ne demande pas plus de deux ou trois lavages. Ceci fait, nous mettons 10 grammes de nos cellules pures au contact de 200 centicubes d'une solution de

nitrate d'argent $\frac{N}{100}$. Nous secouons pendant une heure notre suspension cellulaire ; à ce moment, nous centrifugeons et l'analyse nous montre :

1) Que l'ion NO^3 n'a pas varié (dosage par le sulfate de diphenylamine).

2) Que la quantité d'argent ésoorbé est de 90 %.

Ce chiffre excessif n'est pas de ceux que nous sommes habitués à voir dans les échanges d'ions monovalents.

Ne serait-il pas dû à des modifications cellulaires provoquées par le contact de l'ion Ag ?

Pour le savoir, vérifions comme précédemment l'état dans lequel se trouve notre cellule argentée :

Aspect microscopique : l'examen sans coloration montre que la forme générale de la cellule ne semble pas altérée, que le protoplasma et le vacuome semblent intacts.

Mais si on colore la levure avec un colorant vital tel que le rouge neutre, on constate que les cellules se colorent entièrement en rouge vif.

Vient-on à faire agir l'hydrogène sulfuré, nos cellules sont entièrement noires.

Ces deux observations nous font présumer de la mort de la levure.

Si pour vérifier cette conjecture, nous mesurons l'intensité respiratoire et l'intensité de fermentation, on constate que l' $\text{I}o^2$ et le FCo^2 des cellules argentées sont nuls.

La levure ne respire plus ; elle est incapable de fermenter.

Enfin, l'ensemencement des cellules sur gélose reste stérile.

Ces différentes épreuves permettent d'affirmer la mort de la cellule.

Nous pouvons donc conclure :

1) L'ion Ag seul pénètre dans la cellule, et non l'ion NO^3 .

2) La quantité de métal absorbée est considérable (180 mmgr. pour 10 grammes frais ou 2 grammes secs ou 40 mmgr. environ de cendres ; de sorte que le poids des cendres est près de cinq fois plus fort).

3) Cette absorption massive tue la cellule.

Influence de la concentration sur la toxicité de l'ion Ag.

Répetons l'expérience précédente avec le même lot de cellules de levure mais en employant des solutions de plus en plus diluées, et déterminons par coloration vitale au rouge neutre, le pourcentage des cellules mortes.

TABLEAU XXVII

<i>Action toxique de l'ion Ag en fonction de la concentration</i>		
200 cc Solution NO ³ Ag	% de cellules tuées	% d'Ag pris
N		
100	100	90
N		
500	100	100
N		
1000	100	100
N		
5000	50	100
N		
10000	10	100
N		
50000	1	100

On voit que dans les solutions concentrées ($\frac{N}{100}$), l'ion Ag est en quantité suffisante pour tuer toutes les cellules. En opérant par contre avec des solutions très diluées ($\frac{N}{10000}$), le métal est absorbé entièrement par les cellules dont certaines résistent et d'autres meurent.

Vitesse de la toxicité de l'ion Ag

Pour étudier la vitesse de l'action toxique de l'argent, nous nous servirons de l'appareillage de WARBURG.

Dans l'enceinte circulaire des récipients, nous plaçons la suspension cellulaire ; dans le godet central, nous versons un peu de potasse pour absorber le CO² de la respiration cellulaire, et dans l'ampoule latérale nous plaçons la solution de nitrate d'argent.

Au début, on étudie l'intensité de la respiration des cellules.

les intactes ; puis, au bout de 20 à 30 minutes, on bascule l'appareil de façon à amener la solution de NO^3Ag au contact des cellules. On recommence les lectures jusqu'à ce qu'il n'y ait plus absorption d'oxygène : toutes les cellules sont alors tuées.

Nous étudierons la vitesse avec laquelle les cellules sont tuées :

- 1) en fonction de la concentration ;
- 2) en fonction du pH.

TABLEAU XXVIII

Etude de la vitesse de la toxicité de l'ion Ag , en fonction de la concentration. (Valeurs exprimées en mm^3 d' O_2 . La quantité d'oxygène absorbée par le même poids de cellules avant tout contact avec l'ion Ag est de 13 mm^3 par cinq minutes.)

Temps en minutes	N 100	N 250	N 500	N 1000
5	— 10	— 11	— 9	— 10
10	— 8	— 9	— 5	— 7
15	— 6	— 4	— 3	— 4
20	— 3	— 2	— 1	— 1
25	0	0	0	0

Ces expériences faites à $\text{pH} = 7$, montrent que la concentration n'influe nullement sur la rapidité avec laquelle les cellules sont tuées (patiquement au bout de 25 minutes le milieu est stérilisé en levure).

TABLEAU XXIX

Etude de la vitesse de la toxicité de l'ion Ag en fonction du pH (Valeurs exprimées en mm^3 d' O_2 absorbé)

Temps en minutes	pH = 3	pH = 5	pH = 7	pH = 8,5
5	— 3	— 3	— 10	— 4
10	— 1	— 2	— 7	— 1
15	0	0	— 5	0
20			— 2	
25			0	

Quel que soit le pH, la mort de la cellule a lieu ; cependant, ce dernier tableau nous montre qu'elle est retardée assez sensiblement en opérant à $\text{pH} = 7$.

Mode d'action toxique du nitrate d'argent

Le nitrate d'argent peut être toxique à la fois par son ion NO^3 et son ion Ag. Or, l'expérience, nous ayant montré que seul l'ion Ag était absorbé et nullement l'ion NO^3 , il y a donc tout lieu de croire que la mort de la cellule est due uniquement à l'ion Ag.

Or, il ne s'agit pas ici d'un échange d'ions à proprement parler. Les acides organiques cellulaires, en effet, réduisent l'argent qui se dépose dans la cellule. Il s'agit ici d'un phénomène de réduction en tous points analogue à celui qui est à la base de l'argenture des glaces dans l'industrie.

Anticipant un peu sur les résultats expérimentaux du chapitre IV, nous sommes frappés de la différence considérable qui existe entre les actions toxiques des ions Ag et Pb. Nous verrons en effet qu'une cellule de levure se trouve parfaitement à l'aise dans une solution très concentrée de nitrate de plomb, alors que nous venons de constater qu'une solution $\frac{\text{N}}{4000}$ de NO^3Ag stérilise véritablement le milieu en cellules de levure.

Or, la toxicologie nous apprend que le plomb est tout au moins, sinon plus, aussi toxique que l'argent. Le cas particulier des levures infirme cette proposition. Aussi tout porte à croire qu'il existe une spécificité cellulaire vis-à-vis des poisons, qui fait que certaines cellules sont très sensibles à l'action d'un poison, alors que d'autres ne le sont pas du tout.

Antagonistes de l'argent

Nous avons cherché s'il n'y aurait pas quelque ion susceptible de neutraliser ou tout au moins de diminuer l'action toxique de l'ion Ag vis-à-vis des cellules de levure:

Les ions étudiés furent : Ba, Ca, K, Na, Pb, NH^4 , Cu, Hg, Bi, Sn. Les résultats furent négatifs; la mort de la cellule de levure se produisait toujours aussi rapidement.

Nous n'avons pu, en particulier, retrouver l'action antagoniste de l'ion Ag et de l'ion Sn signalée par DRZEWINA et BOHN

qui avaient constaté qu'une lamelle d'argent toxique pour des *Convolvata* ne l'était plus quand elle se trouvait en contact avec l'étain qui par lui-même est sans action sur les *Convolvata*.

Etude de l'absorption de l'ion NH^4 en fonction du pH

Nous avons signalé au chapitre II qu'une condition indispensable pour avoir des résultats corrects était d'opérer au voisinage de la neutralité.

Pour illustrer cette proposition, faisons l'expérience suivante :

Dans 8 tubes à centrifugation, plaçons 2 grammes de cellules de levure fraîche et purifiée, et ajoutons dans chaque tube 20 centicubes d'une solution $\frac{\text{N}}{100}$ de sulfate d'ammonium tamponnés par les mélanges de CLARK aux pH : 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9. Nous agitons pendant une heure, puis nous centrifugeons les 8 tubes et dans chacun nous dosons la quantité d'ions NH^4 absorbée.

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

TABLEAU XXX

Absorption de l'ion NH^4 en fonction du pH
(Valeurs exprimées en mm^3 de N^2)

pH	N^2 pris en mm^3
2	0
3	0
4	6
5	18
6	20
7	21
8	42
9	160

Ainsi, l'ion NH^4 ne pénètre dans la cellule de levure qu'à partir de pH = 4 mais la quantité absorbée est faible. Une unité au-dessus, cette quantité s'accroît brusquement pour se maintenir fixe jusqu'à pH = 8. A ce moment, la quantité de NH^4 absorbée augmente à nouveau très brusquement au point de devenir considérable à pH = 9.

Ces résultats d'apparence paradoxale sont cependant logiques.

En effet, jusqu'à $\text{pH} = 5$, la liqueur est tellement acide que les ions H plus rapides que les ions NH^4 entrent seuls. Ce qui le justifie, c'est le fait que la liqueur voit son pH diminuer après contact avec la levure.

A partir de $\text{pH} = 8$, nous n'avons plus affaire à des cellules saines, puisque à ce dernier pH leur intensité respiratoire a fortement diminué au point de s'annuler avec $\text{pH} = 9$.

Les seuls pH où les échanges sont raisonnables sont donc 5, 6 et 7.

Ce sont là des pH physiologiques pour la cellule de levure.

Notons enfin la brutale absorption de l'ion NH^4 à $\text{pH} = 5$. Cette remarque justifiera notre conception physico-chimique des échanges.

Nous reviendrons sur ces résultats expérimentaux en étudiant les ions bivalents.

Etude de la vitesse d'absorption de l'ion NH^4

Soit 10 grammes de cellules de levure auxquels nous ajouterons 500 centicubes d'une solution $\frac{2\text{ N}}{100}$ de ClNH^4 . Nous secouons vivement cette suspension cellulaire, et de temps en temps, nous prélevons de petites quantités de liquide sur lesquelles nous allons doser la quantité d'ions absorbée.

Nous consignons dans le tableau suivant les résultats de nos différentes analyses :

TABLEAU XXXI

Vitesse d'absorption de l'ion NH^4

Temps en minutes	1	2	5	10	20	30	40	50	60	90	120	240
N^2 pris en mm^3	7	7,5	8	8,5	9	9,5	10	10,5	10,5	10,5	10,8	10,9

Ce tableau nous montre que dès la première minute l'absorption est massive et quasi-instantanée ; elle s'accroît lentement à partir de ce moment et atteint une valeur fixe vers la 50^e minute, qu'elle conserve au bout de 4 heures.

Nous pouvons dire que l'équilibre ionique est pratiquement atteint au bout d'une heure de contact.

Cette conclusion justifie donc la condition imposée aux

expériences formulées dans le chapitre II, à savoir la nécessité d'un contact d'au moins une heure.

Nous arrivons ainsi à des conclusions analogues à celles trouvées par DEVAUX.

Signalons déjà que les mêmes faits se retrouveront en expérimentant le plomb dont la micro-réaction aisée permettra de localiser le métal aux différents moments de l'échange.

Essai de la saturation de la cellule de levure en ions NH^4

10 gr. de levure fraîche sont agités pendant une heure au contact de 500 centicubes de $\text{CINH}^4 \frac{\text{N}}{100}$; on centrifuge, et on remplace la solution usée par une solution fraîche ; on répète l'opération jusqu'à ce que les cellules n'absorbent plus.

Voici les quantités d'ions NH^4 absorbées au cours des lavages successifs :

TABLEAU XXXII

Lavages successifs de la cellule de levure avec une solution de $\text{CINH}^4 \frac{\text{N}}{100}$

Lavages	N° pris en cc ³	} Total = 9,3
1 ^{er} Lavage	5,0	
2 ^e Lavage	2,4	
3 ^e Lavage	1,3	
4 ^e Lavage	0,6	
5 ^e Lavage	0	

Ainsi, la quantité totale qui sature 10 gr. de cellules de levure est de 9,3 centicube N^2 ce qui correspond à $83 \cdot 10^{-2}$ millimolécules NH^4 .

Or, la composition minérale avant et après contact avec la solution ammoniacale donne :

10 gr. de cellules de levure contiennent :

	K	Ca
Avant	92 mgr.	30 mgr.
Après	65 mgr.	25 mgr.
Différences	27 mgr.	5 mgr.

Ainsi, par des lavages successifs, l'ion NH^4 est capable de déplacer respectivement le $\frac{1}{3}$ et le $\frac{1}{8}$ de la masse totale de potassium et de calcium contenue dans la cellule de levure.

On arrive ainsi à modifier d'une façon sensible la composition minérale d'une cellule par le phénomène des échanges ioniques. De telles modifications sont encore plus marquées en opérant avec des ions bivalents dont le pouvoir de déplacement est, en vertu de la loi d'action de masse, bien plus grand que celui des ions monovalents.

Conclusions des échanges d'ions entre cellules de levure et ions monovalents

Des différents ions monovalents étudiés nous avons vu que les uns entrent facilement dans la cellule (NH_4^+ , K^+) ; d'autres beaucoup plus difficilement : c'est le cas de l'ion Na^+ trop gros à cause des molécules d'eau qu'il entraîne avec lui. D'autres ions tels que l'argent enfin pénètrent dans la cellule à des doses considérables au point de quintupler le poids des cendres : mais nous avons vu que dans ce cas, il ne s'agissait pas d'un échange ionique proprement dit, mais d'un phénomène de réduction dont la conséquence est de tuer la cellule avec une extrême rapidité.

Quoi qu'il en soit, ce cas particulier mis à part, nous pouvons dire que chaque fois qu'un ion pénètre dans la cellule, il y déplace une quantité moléculairement équivalente des ions propres à la cellule.

C'est le phénomène de l'échange ionique qui se produit brutalement dès le contact de la cellule avec la solution extérieure et qui atteint son équilibre pratiquement au bout d'une heure.

Les expériences réalisées surtout avec des chlorures mais faites également avec d'autres sels à radical acide variable (nitrates, sulfates, oxalates) ont montré que seul, le cation était absorbé, l'anion ne prenant pas part au phénomène. Ces résultats sont valables et pour les ions extérieurs et pour les ions intra-cellulaires.

Nous avons vu que la concentration en ions NH_4^+ , qui est l'ion-type pour de tels échanges, car il passe facilement et la cellule en est dépourvue, diminue d'une quantité indépen-

dante des quantités de solutions mises en présence : il y a, en moyenne, 8 à 10 % d'ions NH^4 absorbés dans la solution.

Les expériences de lavages successifs ont montré qu'il était impossible d'épuiser totalement la cellule en ions K et Ca.

Quand celle-ci est saturée d'ions NH^4 , il lui reste encore une très notable quantité de potassium et de calcium.

Enfin, nous avons démontré que le coefficient de partage est indépendant de la concentration initiale, lorsque les ions qui s'échangent sont tous deux monovalents ; il croît avec la concentration lorsque l'ion de la solution a une valence inférieure à l'ion déplacé (l'ion monovalent déplace d'autant plus d'ions Ca que la concentration de la solution est plus élevée).

Toutes ces expériences ont été faites avec des cellules de levures fraîches et purifiées ; nous les avons répétées rapidement en utilisant d'autres cellules, en particulier des algues monocellulaires (*Chlorella*) et filamenteuses (*Cladophora*).

Les conclusions auxquelles nous sommes arrivées sont en tout point identiques.

Le phénomène est donc général.

CHAPITRE IV

ETUDE DES IONS BIVALENTS

ETUDE DE L'ION PLOMB

Méthodes de dosage

Parmi les nombreuses méthodes de dosage du plomb nous en avons utilisé deux que nous avons un peu modifiées et que nous allons tout d'abord décrire :

Méthode au ferrocyanure de potassium

Principe : les sels de plomb sont précipités par le ferrocyanure de potassium et cette précipitation est complète quand on opère en milieu acétique.

Pour déterminer la fin de la précipitation, on emploie comme réactif, le chlorure ferrique, qui donne la coloration bleu de Prusse avec le ferrocyanure de potassium en excès.

Solution nécessaires

1) *Solution décinormale de plomb.*

Azotate de plomb cristallisé 16 grammes

Eau distillée q. s. p. 1 litre

1 centicube de cette solution contient 1 centigramme de plomb.

2) *Solution de chlorure ferrique.*

Perchlorure de fer officinal 1 centicube.

Eau distillée q. s. p. 250 centicubes.

Ce réactif est employé comme indicateur externe (procédé à la touche).

- 3) *Solution de potasse à 10 p. 100*..... 500 cc.
- 4) *Acide acétique cristallisable* 100 cc.
- 5) *Solution de ferrocyanure de potassium.*

Ferrocyanure de potassium 10 gr. 20
Eau distillée q. s. p. 1 litre.

Le litre de cette solution a besoin d'être vérifié. Pour cela on opère de la façon suivante :

On met dans un verre de Bohême 10 cc. de liqueur plombique et on verse d'un seul coup 9 cc. 5 de solution de ferrocyanure de K. On agite et on porte avec un agitateur une goutte de ce mélange sur le chlorure ferrique qu'on aura déposé en gouttes sur une feuille de papier blanc glacé. Si ce premier contact ne modifie pas la teinte de la goutte de chlorure ferrique, on continuera à verser la solution de ferrocyanure, mais cette fois-ci goutte à goutte, jusqu'à ce que le chlorure ferrique prenne une teinte blanchâtre au contact d'une goutte du mélange : plomb-ferrocyanure de K.

A ce moment, on lit le volume total V de ferrocyanure versé.

Le titre de la solution de ferrocyanure de potasse sera de 10 centigrammes de plomb.

V

Pratique du dosage

20 centicubes de la liqueur plombique à doser sont additionnés, goutte à goutte, de la solution de potasse à 10 % jusqu'à trouble permanent qu'on redissout avec le moins possible d'acide acétique cristallisable. On complète le volume à 100 centicubes qu'on agite bien. On prend 10 centicubes de cette nouvelle solution auxquels on ajoute centicube par centicube la solution titrée de ferrocyanure jusqu'à ce qu'une goutte de ce mélange bleuisse le chlorure ferrique. Soit n le nombre de centicubes de la solution ferrocyanurée. On ajoute alors au mélange 10 nouveaux centicubes de notre deuxième liqueur plombique, puis la solution ferrocyanurée, dont on verse d'abord (n-1) centicubes d'un seul coup, puis goutte à goutte ensuite, jusqu'à ce qu'une goutte de ce mélange bleuisse le réactif ferrique : pour faire cette seconde

opération on a ainsi employé un volume n' de la solution au ferrocyanure de potassium.

La quantité de plomb métallique contenue dans la prise de 20 centicubes est de :

$$5 (n + n') \frac{10 \text{ cgr}}{V}$$

Remarque : cette méthode de dosage du plomb que l'on peut transformer ainsi en micro-analyse a l'avantage d'être sensible, puisqu'elle comporte une erreur relative de 2 à 3 pour 100.

Mais elle a l'inconvénient d'être un peu longue, et, quand on doit multiplier les analyses dans un temps limité, il est préférable d'adopter la méthode suivante :

Méthode colorimétrique

Principe. — Les sels de plomb traités par l'hydrogène sulfuré ou plus simplement par le monosulfure de sodium donnent un précipité noir de sulfure de plomb. Mais, quand on opère avec des solutions plombiques très diluées, ce précipité ne se produit pas et on a une simple coloration marron que l'on compare avec une couleur étalon de concentration connue.

Pratiquement, pour faire de bonnes lectures colorimétriques, la solution à examiner ne doit pas contenir plus de dix centigrammes de plomb par litre. Si on doit opérer avec des solutions plus concentrées, il est nécessaire de les diluer.

Solutions nécessaires

1) *Solution de monosulfure de sodium.*

Monosulfure de sodium 5 grammes.

Eau distillée q. s. p. 100 centicubes

La solution qui vient d'être préparée est toujours un peu brune ; on la laissera déposer et elle pourra être utilisée 24 heures plus tard après filtration.

2) *Solution plombique étalon.*

Nitrate de plomb cristallisé 16 grammes.

Eau distillé q. s. p. 1.000 centicubes.

C'est une solution $\frac{N}{10}$ de plomb métallique.

Cette liqueur est évidemment trop concentrée pour se prêter à une mesure colorimétrique correcte ; c'est pourquoi il sera nécessaire de la diluer lors du dosage. (En pratique 100 fois son volume).

Technique. — Dans un tube à essai on verse dix centicubes de la solution étalon, et dans un autre le même volume de la solution à doser ; ces deux liqueurs ayant été au préalable suffisamment diluées, ce qu'un essai grossier permet d'apprécier, on ajoute à chaque tube 1 centicube de la solution Na^2S à 5 % et immédiatement on fait la lecture au colorimètre.

Soit : C la concentration de la solution à déterminer.

C' la concentration de la solution étalon.

S et S' la hauteur des couches liquides des solutions d'essai et étalon.

Quand l'égalité des teintes est obtenue, on aura :

$$\frac{C}{C'} = \frac{S'}{S}$$

$$\text{d'où } C = \frac{C' \times S'}{S}$$

Remarque. — Pour faire de bonnes lectures, il faut que la concentration de la liqueur à déterminer soit la plus voisine possible de celle de la solution étalon.

De plus, il ne faut pas trop attendre à faire la lecture au colorimètre une fois le réactif sulfuré sodique ajouté, car, au bout de quelques minutes, il se produit une sorte de louche qui atténue non seulement l'intensité de la coloration mais encore modifie la couleur qui du marron vire au gris.

En suivant ces recommandations et celles qui s'appliquent

d'une façon générale à toute lecture colorimétrique, cette méthode de dosage du plomb nous a donné d'excellents résultats, avec une approximation inférieure à 2 pour cent.

C'est donc une méthode simple, rapide et sensible.

Expérience de départ

Mettons dix grammes de cellules de levure de boulanger fraîche et purifiée au contact de 100 centicubes d'une solution de nitrate de plomb très diluée, par exemple $\frac{N}{100}$. Secouons cette suspension cellulaire pendant une heure et centrifugeons.

Prélevons 10 centicubes du liquide surnageant que nous étendons à 100 cc. ; faisons la même dilution avec 10 cc. d'une solution fraîche de nitrate de plomb $\frac{N}{100}$. Ajoutons à chacune de ces liqueurs, 1 cc. du réactif au monosulfure de sodium. Nous constatons à l'œil nu et sans le secours du colorimètre que la coloration de la liqueur plombique qui a été en contact avec la cellule est sensiblement moins intense que la liqueur intacte.

A 20 autres centicubes du liquide de centrifugation ajoutons quelques gouttes du réactif de CARNOT ; il se forme un précipité jaune révélant la présence de potassium dans la liqueur.

Enfin, si on traite quelques centicubes de cette solution plombique qui a été en contact avec la cellule de levure par une solution d'oxalate d'ammoniaque, un précipité se développe peu à peu qui indique la présence de calcium.

Donc, le lavage d'une cellule de levure avec une solution de nitrate de plomb diluée a pour effet :

- 1) De faire pénétrer le plomb métallique dans la cellule.
- 2) De faire sortir de la cellule du potassium et du calcium.

Nous résumerons ces constatations en disant que l'ion extérieur Pb déplace les ions K et Ca de la cellule de levure.

Quelles sont maintenant, les lois quantitatives qui règlent ces échanges ioniques ?

Influence de la concentration

Mettons 10 grammes de cellules de levure au contact de 100 centicubes d'une solution $\frac{N}{50}$ de $(NO^3)^2 Pb$. Agitons pendant une heure ; à ce moment, et après centrifugation, si on compare au colorimètre notre solution plombique suffisamment diluée et traitée par le sulfure de sodium à la solution intacte diluée et traitée de la même façon, on constate qu'il y a égalité de teinte pour une même auteur des solutions examinées.

Donc, à cette concentration l'ion Pb ne pénètre pas dans la cellule.

Refaisons exactement la même opération, en employant la même masse de levure mais en utilisant cette fois 100 centicubes d'une solution de nitrate de plomb $\frac{N}{1000}$, 40 fois moins concentrée par conséquent que la liqueur de l'expérience précédente. Cette nouvelle solution, traitée après centrifugation par le réactif au Na^2S ne donne qu'une très faible coloration marron.

A la concentration $\frac{N}{1000}$, l'ion Pb est presque totalement absorbé par la cellule de levure.

Nous allons maintenant serrer de plus près le phénomène pour voir quelles sont les différentes valeurs de l'absorption de l'ion Pb entre les deux concentrations limites $\frac{N}{50}$ et $\frac{N}{1000}$,

Pour ce faire, prenons une série de 8 ballons et mettons dans chacun d'eux 50 grammes de cellules de levure de bôulanger fraîche et purifiée ; puis, à chaque ballon ajoutons 1000 centicubes d'une solution de nitrate de plomb aux concentrations décroissantes suivantes :

$$\frac{N}{100} \text{ , } \frac{N}{150} \text{ , } \frac{N}{200} \text{ , } \frac{N}{500} \text{ , } \frac{N}{700} \text{ , } \frac{N}{1000} \text{ , } \frac{N}{1250}$$

Nous agitons l'ensemble de ces 8 ballons pendant une heure et nous dosons par la méthode colorimétrique la quantité de plomb métallique absorbée.

TABEAU XXXIII

*Absorption de l'ion Pb en fonction de la concentration
(Concentrations en 10^5 — ion-gramme par litre)*

Solution	(Pb) Initiale C_0	(Pb) Finale C_x	$C_0 - C_x$	$\frac{C_x}{C_0}$
$\frac{N}{100}$	1000	800	200	0,80
$\frac{N}{150}$	666	373	293	0,56
$\frac{N}{200}$	500	210	290	0,42
$\frac{N}{500}$	200	20	180	0,10
$\frac{N}{700}$	143	34	109	0,04
$\frac{N}{1000}$	100	2	98	0,02
$\frac{N}{1200}$	83	0	83	0,00

Ce tableau nous montre que lors du lavage d'une cellule de levure vivante avec des solutions de $(NO^3)^2 Pb$ à des con-

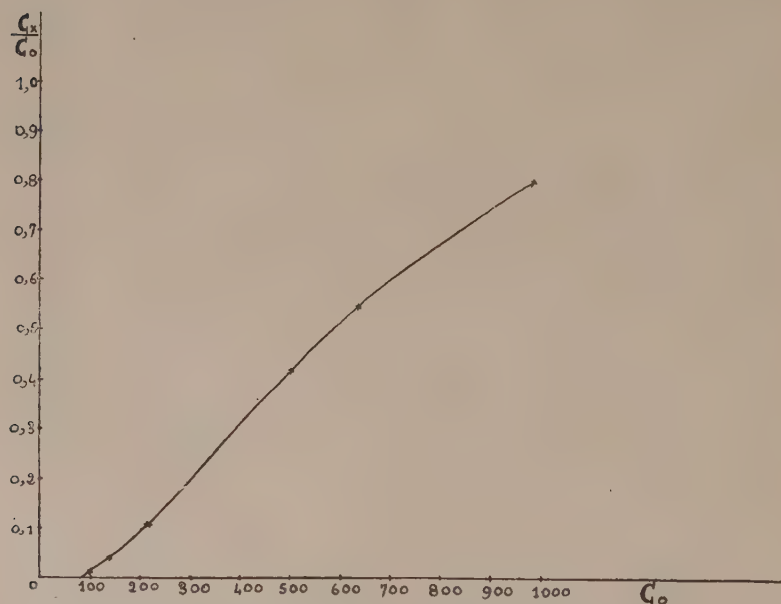


Fig. 1. — Variations du coefficient d'absorption $\frac{C_x}{C_0}$ de l'ion Pb en fonction de la concentration initiale C_0

centrations progressivement décroissantes, la concentration C de l'ion Pb dans la solution diminue à partir de sa valeur initiale C_0 pour atteindre au bout d'une heure environ une valeur fixe C_x , et que le coefficient de partage $\frac{C_x}{C_0}$ décroît avec la concentration initiale C_0 .

En solution concentrée ($C_0 > 1.000$). l'effet relatif de pénétration est très faible ; en solution diluée ($C_0 < 83$), il est total au contraire. La levure absorbe, dans une solution moins que millinormale, la totalité de l'ion Pb présent dans la solution ; il s'agit d'une véritable condensation du métal par la cellule.

Echange de l'ion Pb contre les ions de la levure

50 grammes de cellules de levure fraîche et pure sont agités pendant une heure au contact de 1.000 centicubes d'une solution de $(NO^3)^2 Pb \frac{N}{100}$.

Après centrifugation, on détermine dans la solution la quantité de plomb absorbée et les quantités de potassium et de calcium abandonnées par la cellule.

TABLEAU XXXIV

*Echange de l'ion Pb contre les ions K et Ca de la levure
(Valeurs absolues dans la solution)*

Levure en gr.	Solution $(NO^3)^2 Pb$ en cc ³	(Pb) initiale C_0 en mmgr.	(Pb) finale C_x en mmgr.	$C_0 - C_x$	$\frac{C_x}{C_0}$	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	K + Ca	$\frac{K}{Ca}$
50	1000	1000	728	272	0,73	5,5	23	78	2,4

TABLEAU XXXV

*Echange de l'ion Pb contre les ions de la levure
(Valeurs en 10^{-5} ion-gramme par litre de solution)*

Levure en gr.	Solution $(NO^3)^2 Pb \frac{N}{100}$ en cc ³	(Pb) initiale C_0	(Pb) finale C_x	$C_0 - C_x$	$\frac{C_x}{C_0}$	(K)	(Ca)	(K + Ca)	$\frac{(K)}{(Ca)}$
50	1000	1000	728	272	0,73	141	115	256	1,2

Ce dernier tableau nous montre :

1) que la quantité d'ions Pb prise par la cellule de levure est à peu près équivalente au point de vue moléculaire aux quantités d'ions K et Ca sorties (272 ions Pb contre 256 ions K + Ca).

2) qu'il apparaît sensiblement autant d'ions K que d'ions Ca $\frac{(K)}{(Ca)} = 1,2$.

3) que la quantité d'ions Pb absorbée est relativement élevée : 272 mmgr. ; le coefficient de partage, $\frac{C_x}{C_o}$ montre que la cellule a absorbé environ 30 % des ions Pb présents dans la solution.

Or, nous avons vu que dans le cas des ions monovalents, et en particulier de l'ion NH^4 , la quantité d'ions prise n'excédait pas 10 %. L'ion bivalent Pb a donc un pouvoir de déplacement trois fois plus grand que celui de l'ion monovalent NH^4 .

Cette comparaison permet de saisir au mieux l'influence de la valence dans les phénomènes d'échanges d'ions.

Nous reviendrons plus loin sur le grand pouvoir de déplacement de l'ion Pb et nous verrons qu'en mettant à profit cette propriété on arrive à modifier totalement la composition minérale de la cellule.

Echange des ions de la levure contre l'ion Pb en fonction de la concentration

Mettons 50 grammes de cellules de levure, fraîche et pure au contact d'un litre d'une solution de $(NO^3)^2 Pb$ dont on fait varier la concentration :

$$\frac{N}{100} \cdot \frac{N}{200} \cdot \frac{N}{400} \cdot \frac{N}{500} \cdot \frac{N}{1000} \cdot \frac{N}{2000} \cdot \frac{N}{4000}$$

Au bout d'une heure d'agitation, on dose dans ces différentes solutions à la fois la quantité de plomb absorbée et celles de potassium et de calcium déplacées.

TABLEAU XXXVI

*Echange de l'ion Pb contre les ions K et Ca de la levure
en fonction de la concentration
(Valeurs absolues dans la solution)*

(Pb) Initiale C_0 en mmgr.	(Pb) Finale C_x en mmgr.	C_x — C_0	$\frac{C_x}{C_0}$	K sorti en mmgr.	Ca sorti en mmgr.	K + Ca	$\frac{K}{Ca}$
1000	728	272	0,73	55	23	78	2,4
500	244	256	0,50	47	22	69	2,1
250	19	231	0,08	39	24	63	1,6
200	7	193	0,035	30	26	56	1,15
100	0	100	0,00	9	15	24	0,6
50	0	50	0,00	4	5,2	9,2	0,8
25	0	25	0,00	2	3,1	5,1	0,6

TABLEAU XXXVII

*Echange de l'ion Pb contre les ions K et Ca de la levure
en fonction de la concentration
(Valeurs en 10^{-5} ion-gramme par litre)*

(Pb) initiale C_0	(Pb) Finale C_x	$C_0 - C_x$	$\frac{C_x}{C_0}$	(K)	(Ca)	(K) + (Ca)	$\frac{(K)}{(Ca)}$
1000	728	272	0,73	141	115	256	1,2
500	244	256	0,50	120	110	230	1,1
250	19	231	0,08	100	120	220	0,8
200	7	193	0,035	76	130	206	0,6
100	0	100	0,00	23	74	97	0,3
50	0	50	0,00	10	27	37	0,3
25	0	25	0,00	5	16	21	0,3

Ce tableau confirme d'abord les variations du coefficient de partage en fonction de la concentration que nous avons étudiées dans le tableau XXXIII. Il montre d'autre part, que les déplacements ioniques sont toujours équimoléculaires ; aux erreurs d'expériences près. Il montre enfin que le rapport $\frac{K}{Ca}$ croît avec la concentration en solution concentrée ; l'ion Pb déplace en somme un peu plus d'ions K que d'ions Ca ; mais en solutions diluées, le déplacement des ions calcium est beaucoup plus marqué que celui des ions potassium.

Or, si on se rapporte aux résultats quantitatifs des expériences faites avec les ions monovalents, en particulier au tableau XIII, on constate que les conclusions concernant le coefficient $\frac{K}{Ca}$ sont précisément inverses.

En solution concentrée, un ion monovalent déplace davantage d'ions Ca que d'ions K : c'est l'inverse pour un ion bivalent ; en solutions diluées par contre, le même ion monovalent déplace plus d'ions K que d'ions Ca : c'est le contraire pour un ion bivalent.

Mais, notons que tous ces résultats sont très relatifs, car pour une même concentration, $\frac{N}{100}$ par exemple, les quantités absolues d'ions K et Ca déplacées sont toujours plus grandes en opérant avec un ion bivalent qu'avec un ion monovalent, ce qui justifie précisément la loi d'action de masse.

Enfin, notons à titre de vérification, que les variations de composition minérale de la levure et de la solution extérieure se font quantitativement en sens inverse, ainsi que le montre le tableau suivant :

TABLEAU XXXVIII

Echanges entre les ions de la levure et l'ion Pb. Comparaison entre les variations de la composition de la levure et de la composition de la solution.

(Valeurs en 10⁻⁵ ion-gramme)

Variations de composition de :	K	Ca	K + Ca	Pb
Levure (50 gr. frais)	— 127	— 104	— 231	+ 249
Solution $\left[\text{I}^1 (\text{NO}) \text{ } ^2\text{Pb } \frac{N}{100} \right]$	+ 141	+ 115	+ 256	— 272

La pénétration du plomb étant un fait établi, il s'agit de savoir maintenant si ce métal n'a pas quelque effet toxique sur la cellule.

Aspect microscopique. — Les cellules de levure ont conservé leur forme générale, et on ne note aucune déformation du côté de la membrane, celle-ci ne présentant aucune solution de continuité. Aspect normal également du protoplasma et du vacuome.

Si sur une préparation de cellules de levure ainsi plombées on fait agir quelques gouttes de la solution de sulfure de sodium à 5 %, on localise très nettement le plomb au niveau des vacuoles et de la membrane qui sont teintées en noir. La cellule prend de ce fait un aspect tigré.

Dans certains champs du microscope on rencontre égale-

ment des cellules qui sont entièrement colorées en noir ; ces cellules, qui sont très rares, sont mortes.

La coloration du plomb dans les cellules par le sulfure de sodium prend ainsi la valeur d'une coloration vitale, au même titre que le procédé au rouge neutre. Les résultats sont en effet identiques : coloration du vacuome seulement dans le cas de cellules vivantes, coloration de la cellule « in toto » dans le cas de cellules mortes.

Intensité respiratoire ; intensité de fermentation. — L'intensité respiratoire et l'intensité de fermentation des cellules plombées ont des valeurs identiques à celles des cellules intactes ($I_o^2 = 10$; $F_{co} = 2$).

Cultures : Les cellules ont étéensemencées sur gélose inclinée. Les cultures se sont développées avec une vitesse normale, et les colonies suivies pendant plusieurs mois, ont présenté des aspects macroscopiques et microscopiques analogues à ceux des cultures de cellules intactes.

CONCLUSIONS : Les cellules de levure résistent donc parfaitement à la pénétration du plomb. Ce résultat surprend un peu, quand on songe à la toxicité de ce métal. D'un autre côté, nous avons vu que DEVAUX empoisonnait des algues avec l'eau des canalisations de son laboratoire qui était à la concentration de 0 mmgr. 2 par litre. Or, les expériences que nous avons rapportées ont été faites avec des solutions considérablement plus concentrées, et pourtant, les cellules de levure ne semblaient nullement incommodées par la présence du plomb. Ainsi, se dessine la notion d'une toxicité spécifique de l'ion Pb, en vertu de laquelle, le métal très toxique pour certaines variétés de cellules ne l'est nullement pour d'autres.

Nous avons d'ailleurs répété les expériences de pénétration du plomb en utilisant des algues filamenteuses (*Cladophora*) et nous avons retrouvé cette action toxique du métal sur de telles cellules.

Etude de la vitesse d'absorption de l'ion Pb

Nous avons vu que la vitesse de pénétration de l'ion NH_4^+ dans la cellule n'était pas uniforme, mais qu'il se produisait d'abord une absorption brusque, à laquelle faisait suite un temps de pénétration beaucoup plus lent, et que, en somme, l'échange avait pratiquement atteint son équilibre au bout d'une heure.

Les mêmes constatations se retrouvent avec le plomb, ainsi que le montre l'expérience suivante :

50 grammes de cellules de levure sont mis au contact de 1.000 centicubes d'une solution de nitrate de plomb $\frac{\text{N}}{100}$.

La suspension cellulaire est agitées, et, de temps en temps, nous prélevons de petites quantités de la solution où nous dosons les quantités d'ion Pb absorbées.

TABLEAU XXXIX

		Vitesse d'absorption de l'ion Pb											
Temps en min.	1	2	5	10	20	30	40	50	60	90	120	240	
Pb pris													
en mmgr.	225	225	225	250	275	300	335	350	350	350	355	355	
de Pb pris													
$\frac{\%}{\text{de Pb pris}}$	45	45	45	50	55	60	67	70	70	70	71	71	

Le tableau XXXIX nous montre que la pénétration de l'ion Pb se décompose en deux phases :

1) une phase de début où l'absorption est massive et pratiquement instantanée. Elle commence dès le contact de la solution avec la cellule et se prolonge pendant les dix premières minutes.

2) une phase d'état où l'absorption est lente. Cette deuxième période commence au bout d'un quart d'heure environ de contact, et dure approximativement une demi-heure. A ce moment, c'est-à-dire au bout de 50 minutes environ de contact, l'équilibre est pratiquement atteint, l'absorption qui se produit dès lors étant en effet négligeable.

Ces deux phases distinctes dans le temps, correspondent à des stades différents de pénétration du métal dans la cellule. Pour mettre en évidence ces deux temps de l'absorption de

l'ion Pb, il faut s'adresser à des cellules beaucoup plus grosses que les cellules de levure où le cheminement du métal est difficile à mettre en évidence.

Les algues filamenteuses telles que les *Oedogones* réalisent parfaitement cette condition tout en se laissant bien pénétrer par le plomb. Les *Oedogones* se présentent sous forme de filaments verts cloisonnés, dont les cellules vont en s'amincis-

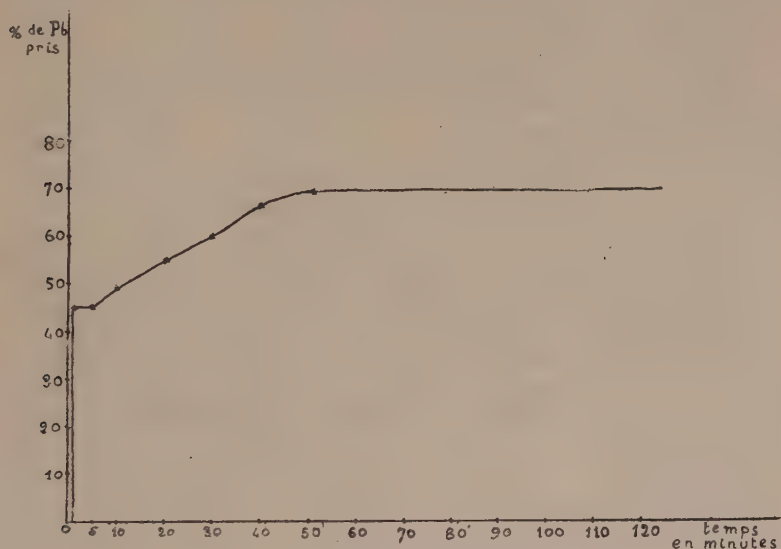


Fig. 2. — Vitesse d'absorption de l'ion Pb.

sant de la base au sommet. Celles-ci contiennent des chloroleucites petits et de gros globules d'aspect oléagineux.

Cependant, il est nécessaire d'opérer avec des solutions très diluées, étant donnée la fragilité de ces végétaux. En observant cette précaution, on obtient une courbe de pénétration tout à fait analogue à celle de la fig. 2. Or, si on prélève des cellules pendant les dix premières minutes, et qu'on les colore par la solution de sulfure de sodium à 5 %, on constate que la membrane seulement se colore en noir. Puis, si on fait un nouveau prélèvement vers la vingtième minute, on constate que non seulement la membrane est colorée, mais encore que, à l'intérieur même de la cellule, se dessine un petit amas noir de sulfure de plomb qui grossit au fur et à

mesure que le contact de la cellule avec la solution plombique se prolonge. Au bout d'une heure, le volume de ce petit bloc métallique a atteint une valeur fixe qu'il garde dans les heures qui suivent ; sa taille est d'ailleurs considérable, et, on peut par petites pressions exercées sur la lamelle, arriver à le projeter telle une petite balle contre les parois cellulaires.

Ainsi, lors de la pénétration de l'ion Pb dans la cellule, on doit distinguer deux stades :

1) Dans les dix premières minutes, le métal est fixé par la membrane. C'est uniquement un phénomène de membrane ; son début est instantané.

2) Au bout de dix minutes, l'ion Pb pénètre lentement à l'intérieur de la cellule où il s'y accumule peu à peu pour atteindre une valeur fixe au bout d'une heure environ.

SCARTH G. W. (1925) avait d'ailleurs trouvé que la vitesse de pénétration de beaucoup de cations bivalents et trivalents est rapide mais diminue bientôt et devient nulle.

Saturation des cellules de levure vivantes par le plomb

Nous avons vu que par des lavages répétés nous pouvions faire pénétrer une quantité notable d'ions NH_4^+ dans la cellule (0,008 ion-gramme pour 100 grammes de cellules fraîches) qui, au total, déplaçait respectivement le $\frac{1}{3}$ et le $\frac{1}{8}$ de la masse totale de potassium et de calcium contenue dans la cellule de levure.

Or, étant donné le grand pouvoir de déplacement de l'ion Pb, il y a tout lieu de supposer qu'en lavant plusieurs fois avec ce métal la cellule jusqu'à saturation, on arrivera à la fin à déplacer une quantité beaucoup plus grande des ions cellulaires que dans le cas de l'ion NH_4^+ .

L'expérience vérifie entièrement ces prévisions.

20 grammes de levure fraîche et purifiée sont agités pendant une heure au contact de 200 centicubes de solution de $(\text{NO}_3)_2 \text{Pb} \frac{\text{M}}{200}$; on centrifuge une fois l'équilibre atteint ; on remplace la solution de Pb usée par une solution fraîche, et

on répète l'opération jusqu'à ce que les cellules n'absorbent plus de Pb.

Les quantités de plomb absorbées au cours de ces lavages successifs sont exprimées dans le tableau suivant :

TABLEAU XL

Lavages successifs de 20 gr. de cellules de levure vivantes

avec une solution $(NO^3)^2 Pb \frac{M}{200}$ (200 centicubes)

Lavages	Pb pris en mmgr.	
1 ^{er} Lavage	78	} Total = 305
2 ^e —	58	
3 ^e —	58	
4 ^e —	58	
5 ^e —	50	
6 ^e —	3	
7 ^e —	0	

Ainsi, la quantité totale de Pb qui sature 100 grammes de cellules de levure vivantes est de 1 gr. 525. Or, si on analyse la cellule ainsi saturée en plomb, on constate que la levure ne contient plus que des traces de potassium et de calcium. On suit au microscope, sur les algues surtout, le développement de l'imprégnation par le plomb, qui est très intense à la fin. Malgré cette modification considérable dans la minéralisation de la levure, les cellules respirent et fermentent normalement ; elles ont conservé leur aspect normal au microscope et les cultures sont aussi abondantes.

Par la voie des échanges d'ions, il est donc possible de modifier entièrement la composition minérale de la cellule de levure tout en conservant intacte son activité fonctionnelle.

Saturation par le plomb des cellules de levure tuées

La mort de la cellule de levure peut être obtenue de plusieurs façons :

1) *Action du nitrate d'argent* : C'est un procédé certain, mais que nous ne pouvons employer ici, puisque nous voulons étudier seulement l'action de l'ion Pb.

2) *Action des solutions alcalines* : Nous avons vu que les cellules de levure résistent fort bien à des acidités considérables (pH = 1) ; par contre, ces mêmes cellules commencent

à s'altérer à $\text{pH} = 8,5$ et sont tuées certainement à $\text{pH} = 9$.

Pour la même raison que dans le cas du nitrate d'argent, nous ne pouvons employer ce procédé pour tuer les cellules de levure.

3) *Action de la chaleur* : Si la levure peut résister fort bien aux basses températures (— 10° et — 15°), par contre, la chaleur l'altère rapidement.

La chaleur sèche à 70° tue la levure en quelques minutes. A température égale, la chaleur humide met plus d'une heure.

C'est à ce dernier procédé que nous nous sommes adressés pour tuer la levure ; il est en effet moins brutal que la chaleur sèche, et d'autre part, il a l'avantage de n'introduire aucun ion étranger.

Cependant, il y a lieu de centrifuger et de laver la suspension cellulaire, car la mort laisse diffuser dans la solution des substances qui précipitent le plomb.

En possession de cellules de levure mortes et ainsi lavées, nous allons répéter point par point l'expérience des lavages successifs pratiquée sur les cellules vivantes ; le poids de cellules est le même et les solutions employées sont identiques.

Voici les quantités de plomb absorbées au cours de ces différents lavages :

TABLEAU XLI

*Lavages successifs de 20 gr. de cellules de levure mortes
avec une solution $(\text{NO}_3)_2 \text{Pb} \cdot \frac{\text{M}}{200}$ (200 centicubes)*

Lavages	Pb pris en mms.	Total = 1190
1 ^{er} Lavage	200	
2 ^e —	200	}
3 ^e —	200	
4 ^e —	200	
5 ^e —	200	
6 ^e —	140	
7 ^e —	50	
8 ^e —	0	

La quantité totale de plomb qui sature 100 grammes de levure morte est donc de 5 gr. 95. Rappelons que, au microscope, ces cellules ainsi plombées apparaissent entièrement colorées en noir après l'action de Na_2S .

Si nous appelons *indice de plomb* la quantité totale de plomb capable de saturer 100 grammes de cellule, nous

voyons que l'indice de plomb de la levure morte (5,95) est près de quatre fois plus élevé que l'indice de plomb de la levure vivante (1,525).

Nous possédons ainsi une réaction précieuse pour diagnostiquer l'état de vie ou l'état de mort d'une cellule de levure.

Essai de déplacement de l'ion Pb

Nous avons vu que DEVAUX avait réussi à enlever par des solutions salines le fer ou le plomb fixé par une plante.

Nous avons répété ces expériences sur des cellules de levure plombées vivantes et mortes. Nous résumons dans le tableau suivant les résultats de ces essais :

TABLEAU XLII

Essai de déplacement de l'ion Pb

Ions expérimentés	Valeurs du déplacement	
	Cellules vivantes	Cellules mortes
K	faible	assez fort
NH ⁺	très faible	moyen
Ca	faible	assez fort
Zn	très faible	faible

Comme on le voit, l'ion Pb est retenu avec énergie, et les ions expérimentés semblent n'avoir aucun effet de déplacement sur lui. Cette hypothèse est la plus vraisemblable, et il ne semble pas qu'il s'agisse d'une « irréciprocité de perméabilité » comme l'admet WERTHEIMER, en vertu de laquelle l'ion Pb entrerait dans la cellule mais ne pourrait en sortir.

HEVESY G. (1923) a montré que le plomb isotope (Thorium B) se comporte chimiquement et physiologiquement comme le plomb ordinaire. Par contre, sa radio-activité permet de le déceler à des concentrations excessivement faibles. Il s'est servi de solutions de nitrate des deux corps à des concentrations de $\frac{N}{10}$ à $\frac{N}{10^6}$. Des plantules de *Vicia faba* de 14 jours poussaient sur ces solutions pendant 24 heures. Les différentes parties de la plante étaient ensuite étudiées à l'électroscope à l'état de cendres.

A $N 10^{-6}$, les racines prenaient plus de la moitié du plomb présent (60 %), à $N 10^{-4}$, seulement 0,3 %.

L'auteur s'est posé ensuite la question de savoir si le plomb

est à l'état d'ions ou à l'état de combinaison non dissociable. Il a pu montrer ainsi que le plomb radio-actif était déplacé par du plomb non radio-actif. La plante reste 24 heures sur une solution $N\ 10^{-6}$ radio-active, puis le même temps dans une solution $N\ 10^{-2}$: 95 % du plomb radio-actif ont été retrouvés dans la solution.

Les autres ions bivalents : Cu, Zn, Ca, Ba, Cr, ont une action analogue. Toutefois seul Cu est aussi actif que Pb ; l'ion Na est incapable de chasser plus de 24 % de Pb.

L'auteur en conclut que Pb forme probablement uniquement dans la membrane cellulaire un sel dissociable.

Des racines de plantes coupées se comportent de même. L'absorption est donc indépendante de la circulation de l'eau.

ÉTUDE DE L'ION CALCIUM

Nous avons vu que la levure contenait uniquement comme cations, du potassium et du calcium. Or, il est intéressant d'étudier les échanges entre l'un de ces deux ions intra-cellulaires avec une solution extérieure contenant l'autre ion. C'est précisément ce que nous avons fait, lorsque, dans le chapitre des ions monovalents, nous avons étudié les échanges entre une solution de chlorure de potassium et l'ion calcium de la cellule de levure. Nous allons étudier maintenant le phénomène inverse, puisque nous sommes sur le terrain des ions bivalents, et réaliser des échanges entre une solution de chlorure de calcium et les ions potassium de la levure.

Prenons une série de 6 ballons d'un litre contenant chacun 50 grammes de cellules de levure de boulanger fraîche et purifiée par plusieurs lavages à l'eau distillée. A chaque ballon, nous ajoutons 1.000 centicubes d'une solution de Cl^2Ca aux concentrations suivantes : $\frac{N}{100}$, $\frac{N}{250}$, $\frac{N}{500}$, $\frac{N}{1000}$, $\frac{N}{1500}$. Nous posons l'ensemble de nos six ballons sur l'appareil à agitation et nous secouons les suspensions cellulaires pendant une heure.

Une analyse rapide des solutions de contact nous montre que :

- 1) La concentration en ions Cl n'a pas varié.
- 2) La concentration en ions Ca a diminué.
- 3) Du potassium est apparu dans la solution.

Une analyse plus rigoureuse des ions Ca absorbés et des ions K sortis donne les résultats suivants :

TABLEAU XLIII

*Echange de l'ion Ca contre l'ion K de la cellule de levure
(Valeurs absolues dans la solution)*

1 litre Cl ⁺ Ca	(Ca) initiale C ₀ en mmgr.	(Ca) finale C _x en mmgr.	C ₀ - C _x en mmgr.	$\frac{C_x}{C_0}$	(K) sorti en mmgr.
$\frac{N}{100}$	200	155,3	44,2	0,77	80
$\frac{N}{250}$	80	34,4	45,6	0,43	79,4
$\frac{N}{500}$	40	8,4	31,6	0,21	55,4
$\frac{N}{1000}$	20	2,4	17,6	0,12	28,9
$\frac{N}{1500}$	15	0	15	0	24,1

Ce qui nous donne le bilan suivant exprimé en 10⁻² milli-molécules :

TABLEAU XLIV

*Echange de l'ion Ca contre l'ion K de la cellule de levure
(Bilan en 10⁻² milli-molécules)*

1 litre Cl ⁺ Ca	(Ca) initiale C ₀	(Ca) Finale C	C ₀ - C _x	$\frac{C_x}{C_0}$	(K)
$\frac{N}{100}$	1000	779	221	0,77	205
$\frac{N}{250}$	400	172	228	0,43	204
$\frac{N}{500}$	200	42	158	0,21	142
$\frac{N}{1000}$	100	12	88	0,12	74
$\frac{N}{1500}$	75	0	75	0	62

L'examen de ce dernier tableau, joint aux constatations expérimentales qui le précèdent, nous permettent de conclure que, au cours du lavage d'une cellule de levure avec une solution de chlorure de calcium de concentration variable :

- 1) L'ion Cl ne pénètre pas dans la cellule.
- 2) Seul l'ion Ca est absorbé, de sorte que la concentration de la solution en calcium diminue de C_0 à C_x .
- 3) Il apparaît dans la solution des ions potassimu en quantité équivalente à la quantité d'ions Ca disparue. Cette équivalence se vérifie d'ailleurs par l'enrichissement de la levure en calcium d'une quantité précisément égale à la quantité disparue dans la solution.

4) Le coefficient de partage $\frac{C_x}{C_0}$ tend à être proportionnel à la concentration initiale C_0 , de sorte que, en solution concentrée $\left(\frac{N}{100}\right)$, le déplacement ionique est faible ; il est total au contraire en solution très diluée $\left(\frac{N}{1500}\right)$. Comme on le voit, on aboutit avec l'ion calcium à des conclusions identiques à celles faites avec l'ion Pb. Ajoutons, pour compléter cette analogie, que les expériences réalisées avec l'ion Ca sur sa vitesse de pénétration, sur l'influence du pH, et sur les essais de saturation de la cellule en calcium, nous ont donné les mêmes résultats qu'avec le plomb.

ÉTUDE DE L'ION ZINC

Le zinc utilisé sous forme de SO^4Zn nous a donné des résultats tout à fait comparables à ceux du plomb.

L'ion Zn seul pénètre dans la cellule de levure d'où il déplace une quantité moléculairement égale d'ions K et Ca, ainsi que le montre le tableau suivant :

TABLEAU LXV

*Echange de l'ion Zn contre les ions de la cellule de levure
(Valeurs en 10^{-5} ion-gramme par litre)*

Levure en gr	$SO^4Zn \frac{N}{100}$ en cc ³	Initiale (Zn) C_0	Finale (Zn) C_x	$C_x - C_0$	$\frac{C_x}{C_0}$	(K)	(Ca)	(K) + (Ca)	$\frac{(K)}{(Ca)}$
50	1000	1000	759	241	0,76	36	228	264	0,16

Si on compare ce tableau au tableau XXXVII, on peut voir que pour une même concentration ionique, le pouvoir de déplacement total de l'ion Zn est sensiblement le même que celui de l'ion Pb. Par contre, l'ion zinc déplace pour une même concentration, moins de potassium et par suite davantage de calcium que l'ion plomb.

A part cette particularité, tous les caractères propres à la pénétration de l'ion Pb se retrouvent avec l'ion Zn : influence de la concentration, du pH, vitesse d'absorption, etc...

Enfin, les épreuves fonctionnelles de l'activité cellulaire ont montré que cet ion n'altérerait en rien les propriétés de la cellule.

ÉTUDE DE L'ION CUIVRE

Nous avons tenté de faire pénétrer l'ion Cu dans la cellule de levure. Des essais répétés nous ont montré que cet ion n'était pas absorbé et qu'il n'y avait pas d'échange ionique.

Nous avons noté, d'autre part, que la présence de cet ion au contact de la cellule n'altérerait nullement celle-ci (intensités de respiration et de fermentation normales ; aspect microscopique intact avant et après coloration vitale). Par contre, nous avons cherché en vain à cultiver des cellules de levure en milieu au cuivre ; quelque soit le pH où l'on opère, la cellule ne se développe pas.

Conclusions sur les échanges entre les ions de la cellule et les ions bivalents

Nous avons vu que la membrane cellulaire était perméable à certains ions monovalents et imperméable à d'autres. La même propriété se retrouve avec les ions bivalents : certains entrent aisément dans la cellule (Pb, Ca), d'autres n'y peuvent pénétrer (Cu).

Cette pénétration se fait par le mécanisme du déplacement : cet échange est équimoléculaire. L'intensité de cette absorption mesurée par la valeur du coefficient de partage est sous la dépendance étroite de la concentration de l'ion extérieur, et l'on peut dire qu'en opérant avec des solutions de concen-

tration $\geq \frac{N}{50}$, il n'y a pas d'échange et que, au contraire, en utilisant des solutions de concentration $\leq \frac{N}{1200}$, l'effet relatif de pénétration est total. Nous retrouvons dans ce dernier cas, le phénomène de condensation qui avait tant frappé DEVAUX.

Nous avons vu d'autre part que le pouvoir de déplacement d'un ion bivalent est toujours plus marqué que celui d'un ion monovalent.

Nous avons utilisé cette propriété pour épuiser la cellule en ses ions K et Ca. Nous avons ainsi obtenu des cellules entièrement plombées sans aucun préjudice pour leur activité fonctionnelle. Les mêmes essais de saturation effectués sur des cellules mortes nous ont conduit à la notion d'un *indice de plomb*. C'est là une propriété intéressante pour différencier une cellule vivante d'une cellule morte.

L'étude de la vitesse d'absorption nous a montré que la pénétration ionique se faisait en deux temps : un phénomène de membrane qui débutait instantanément, et, ce n'est qu'au bout de cinq à dix minutes, que l'ion pénétrait à l'intérieur même de la cellule.

Enfin, les essais de déplacement effectués seulement sur le plomb, nous ont montré que cet ion était retenu avec énergie par la cellule d'où il était très difficile de l'en déplacer.

CHAPITRE V

COLORATION VITALE ET ECHANGES D'IONS

L'étude physico-chimique de la coloration vitale a été jusqu'ici fort peu développée. Les colorants vitaux sont, si l'on met à part le système réticulo-endothélial des Mammifères (PARAT), exclusivement des colorants basiques. Von MOELLENDORF a interprété la coloration vitale par les colorants basiques comme une précipitation de molécules chargées positivement (le colorant) par des colloïdes chargés négativement (substance acide des vacuoles).

Il était donc logique de se demander s'il y a une différence de nature entre la fixation d'un ion tel que le plomb et d'un ion tel que le bleu de méthylène sur les vacuoles de la cellule.

Etant donné que les colorants vitaux peuvent être considérés comme des bases faiblement dissociées, et que l'on peut toujours soupçonner ces molécules énormes de former des associations par d'autres affinités que celles liées à leur fonction basique — le bleu de méthylène par exemple donne des sels doubles avec Cl^2Zn — il n'est nullement évident que les ions positifs que sont les colorants vitaux se comportent comme les ions positifs que sont les métaux.

Ce problème se ramène au suivant : l'absorption des colorants par les cellules vivantes obéit-elle quantitativement aux lois qui règlent la pénétration des ions métalliques ?

Nous allons montrer que la pénétration du colorant dans la cellule en fonction du pH et de la concentration, le déplacement du colorant par des ions positifs, nous permettent d'assimiler la coloration vitale à un phénomène d'échange d'ions.

Influence de la réaction du milieu sur la coloration vitale

Nous avons essayé de poursuivre l'analyse physico-chimique du phénomène en déterminant le pH exact où pénètre le colorant dans la cellule.

Si, en effet, on agite dix grammes environ de cellules de levure fraîche au contact d'une solution $\frac{M}{40.000}$ de bleu de méthylène, on constate que, au bout d'une heure, la quantité de colorant absorbée est de 50 % ; si on répète l'expérience

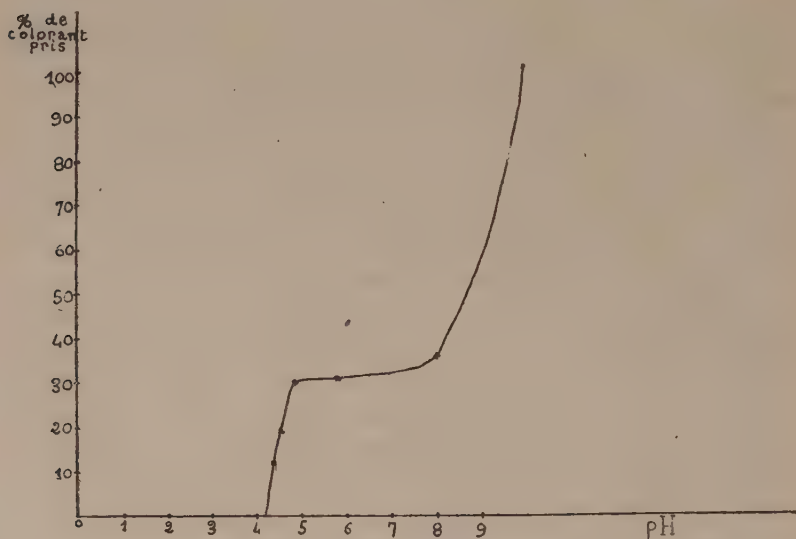


Fig. 3. — Absorption du bleu de méthylène en fonction du pH.

avec la même solution mais acidifiée, le bleu de méthylène n'est pas du tout absorbé ; enfin, si on renouvelle l'opération en milieu alcalin, la solution est totalement décolorée.

L'importance de la réaction du milieu grossièrement mise en évidence dans cette expérience, nous allons réaliser une série de milieux à pH croissants, en précisant aussi exactement que possible le pH à partir duquel le colorant pénètre dans la cellule.

Prenons une série de dix-huit tubes à centrifugation contenant chacun :

Suspension de cellules de levure de boulanger fraîche et purifiée à 100 gr. par litre.....	0 cc. 5
Eau distillée	8 cc.
Solution tampon (Mélange de Clark)	1 cc.
Solution de bleu de méthylène $\frac{M}{100}$	0 cc. 1

L'ensemble est porté sur l'appareil à agitation. Au bout d'une heure, on centrifuge et on détermine par la méthode colorimétrique la quantité de colorant absorbée dans chacun des tubes.

Le tableau LXVI et la courbe de la fig. 3 nous montrent que le bleu de méthylène à la concentration $\frac{M}{100}$ ne pénètre dans la cellule qu'à partir de $\text{pH} = 4,4$. Cette absorption déjà importante à ce pH , atteint, à deux unités au-dessus, sa valeur maxima qui représente l'état d'équilibre entre la cellule de levure et le colorant extérieur. En effet, le coefficient de partage conserve une valeur fixe jusqu'à $\text{pH} = 8$. Mais à $\text{pH} = 9$, la quantité de colorant absorbée est totale, et la solution est complètement décolorée. Or, l'analyse de ce dernier lot de cellules, montre que celles-ci ne respirent plus ni ne fermentent, qu'elles sont colorées « in-toto », qu'elles sont incapables enfin de se multiplier ; toutes ces épreuves permettent d'affirmer qu'à $\text{pH} = 9$, les cellules sont mortes.

D'ores et déjà, nous pouvons signaler les analogies entre la pénétration du colorant et l'absorption des ions minéraux que nous avons étudiés : pénétration de l'ion exogène aux environs de $\text{pH} = 4$; absorption brutale dans les deux cas, qui de nulle qu'elle était passe très rapidement à sa valeur maxima ; constance de cette dernière valeur jusqu'à $\text{pH} = 9$ où les cellules alors tuées absorbent une quantité considérable de l'ion présent dans la solution extérieure.

Frappé de cette similitude de propriétés, nous étions en droit de nous demander si le cation bleu de méthylène ne s'échangeait pas contre les ions de la levure.

Influence de la concentration en colorant.

Avant de justifier cette déduction, nous allons étudier

TABLEAU LXVI

Absorption du Bleu de méthylène en fonction du pH (0 cc, 1 de solution de bleu de méthylène $\frac{\text{M}}{100}$)

pH	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	5,2	5,4	5,6	5,8	6,0	7,0	8,0	9,0
Valeurs absolues																				
du colo-																				
rant pris	0	0	0	0	0	0	0	0	0,04	0,06	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11	0,11	0,12	0,32
%																				
de colo-																				
rant pris	0	0	0	0	0	0	0	0	12	19	31	31	31	31	31	32	32	37	100	∞

TABLEAU LXVII

Absorption du bleu de méthylène. Influence de la concentration en colorant

(0 cc, 25 de solution de Bleu de méthylène $\frac{M}{100}$)

	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	5,2	5,4	5,6	5,8	6,0	7,0	8,0	9,0
pH																				
Valeurs absolues du																				
Colorant pris.....	0	0	0	0	0	0	0,10	0,14	0,18	0,24	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,28	0,30	0,80
/° de colorant pris.	0	0	0	0	0	0	12	17	22	30	33	33	33	33	33	33	33	34	38	100

l'influence de la centration en colorant sur le pli à partir duquel le bleu de méthylène pénètre dans la cellule de levure.

A cet effet, répétons l'expérience précédente en utilisant la même quantité de levure que nous tamponnons avec les mêmes solutions, mais au lieu d'employer 0 cc. 1 de liqueur de bleu de méthylène $\frac{M}{100}$, nous agiterons la suspension cel-

lulaire au contact de 0 cc. 25 de bleu de méthylène $\frac{M}{100}$ c'est-à-dire une quantité de colorant 2,5 fois plus forte. Après une heure d'agitation, nous procédons, par la méthode colorimétrique, à la détermination de la quantité de colorant absorbée.

Si on compare ce dernier tableau au précédent, on peut noter que l'allure du phénomène se retrouve entièrement. Le coefficient de partage atteint très rapidement sa valeur fixe qui se maintient jusqu'à $\text{pH} = 9$ où les cellules sont alors tuées. La valeur du coefficient de partage, à l'état d'équilibre, est la même dans les deux cas ; de sorte que la quantité de colorant absorbée devient ainsi proportionnelle à la concentration.

Notons enfin que le fait d'augmenter la concentration en colorant déplace dans le sens de l'acidité le pH à partir duquel le bleu de méthylène pénètre dans la cellule.

Si on augmente progressivement la concentration du colorant, on déplace ainsi d'unités en unités cette valeur particulière du pH jusqu'à une certaine valeur (3,5) au-dessous de laquelle le bleu de méthylène ne pénètre plus dans la cellule, quelle que soit la concentration à laquelle on opère.

Les mêmes résultats ont été obtenus en faisant varier soit la nature du colorant basique, soit celle de la cellule vivante (*Entéromorphes* ; *Ulves* ; etc...).

Cas de colorants acides

Les expériences précédentes ont été répétées dans les mêmes conditions, avec des lots identiques de cellules vivantes, mais où les colorants utilisés furent des colorants acides. Dans ces conditions, nous n'avons jamais pu observer la pénétration

du clorant acide dans la cellule, quel que soit le pH auquel nous ayons opéré.

Toxicité de la safranine

3 grammes de cellules de levure de boulanger sont mis en contact de 20 cc. d'une solution $\frac{M}{100}$ de safranine tamponnée aux divers pH : 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9. Au bout d'une heure d'agitation, on constate que la solution est entièrement décolorée, et que les cellules de levure sont tuées.

La même expérience réalisée avec le rouge neutre donne des résultats identiques à ceux que nous avons obtenu avec le bleu de méthylène.

Or, le rouge neutre et la safranine sont des colorants aziniques, dont le noyau est celui du bleu de méthylène où le soufre serait remplacé par un atome d'azote. Ce remplacement entraîne, d'ailleurs, un abaissement énorme du potentiel d'oxydo-réduction. Dans la safranine, cet atome d'azote porte en outre un noyau benzénique.

Quoi qu'il en soit, voici deux colorants basiques dont les propriétés chimiques sont très voisines et qui ont sur la cellule de levure des effets totalement opposés.

Cette action toxique de la safranine sur la cellule vivante ne saurait d'ailleurs être généralisée, car si nous l'avons constaté comme très rapide et très manifeste sur la cellule de levure, GÉNEVOIS a montré que cette propriété ne se retrouvait pas sur les *Chlorelles* où la présence d'un tel colorant augmente au contraire l'activité respiratoire.

Echange du bleu de méthylène contre les ions de la cellule.

Il est aisé de démontrer d'une façon frappante que les colorants basiques jouent le rôle de cations qui peuvent s'échanger contre les cations de la cellule vivante. La démonstration est particulièrement nette avec certaines algues telles que les *Entéromorphes*. Chez ces végétaux, les colorants basiques ne colorent pas les vacuoles intracellulaires mais uniquement la membrane. Les *Entéromorphes* sont des algues très résistan-

tes et qui subissent sans dommage physiologique de grandes variations du milieu où elles sont plongées.

Colorons donc à fond quelques *Entéromorphes* par une solution d'un colorant basique ; puis, cette opération terminée, lavons longuement nos cellules à l'eau distillée, ce qui ne les altère nullement. Au bout d'un temps très court, les eaux de lavage passent incolores. A ce moment, on peut laisser nos *Entéromorphes* dans de l'eau distillée, pendant plusieurs heures, sans que le milieu ambiant se colore. L'examen microscopique montre pourtant que les membranes sont fortement teintées.

Si nous plongeons, par contre, le végétal dans de l'eau de mer, celle-ci apparaît rapidement colorée et devient de plus en plus foncée à mesure que le contact se prolonge. On arrive ainsi à déplacer une notable quantité du colorant ; les cellules sont encore colorées mais de façon moins intense. Mais, si l'on renouvelle l'eau de mer, on peut enlever une nouvelle quantité de colorant et en répétant l'opération plusieurs fois on arrive ainsi à décolorer complètement les cellules.

Ce phénomène résulte de l'action de masse des sels de l'eau de mer : en effet, si nous agitions des *Entéromorphes* ainsi colorés par le rouge neutre ou le bleu de méthylène au contact de solutions de chlorure de potassium, à des concentrations décroissantes, $\frac{N}{2}$, (ce qui représente à peu près l'isotonie de l'eau de mer), $\frac{N}{4}$, $\frac{N}{8}$, $\frac{N}{16}$, $\frac{N}{32}$, on note que le déplacement du colorant fixé est d'autant plus rapide que la concentration de la solution saline est plus élevée.

L'équilibre une fois atteint, la perte de l'algue en matière colorante est d'autant plus élevée que la solution est plus concentrée.

Dans ce phénomène, on peut donc dire que le cation K a déplacé de l'algue le cation rouge neutre ou bleu de méthylène.

Si l'on compare, à concentrations égales, le pouvoir de déplacement de divers cations $_{2}NH^+$, K, Na, on constate que leur action va en décroissant, suivant l'ordre indiqué. Le fait que

le sodium a un très faible pouvoir de déplacement tient au gros volume moléculaire de l'ion Na, fait que nous avons déjà constaté. Ceci nous permet de comprendre pourquoi la composition des algues marines diffère tant de celle de l'eau de mer. L'eau de mer en effet est très riche en sodium et relativement pauvre en potassium et en calcium ; or, l'analyse montre que la composition des *Entéromorphes* et des *Ulves* est précisément inverse.

TABLEAU LXVIII

Concentration des ions minéraux dans les algues fraîches et dans l'eau de mer, par kilo, en millièmes d'ions-grammes

	Eau de mer	Ulves	Entéromorphes
1/2 Ca	21,6	334	47
Na	482	7,8	12
K	10,2	32	93

Les expériences de déplacement du colorant ont été répétées avec les cellules de levure et ont donné des résultats identiques à ceux obtenus avec les algues marines.

CHAPITRE VI

CONCLUSIONS

L'étude expérimentale ici entreprise a été faite en vue de déterminer quelles sont les affinités chimiques d'une cellule vivante, la cellule de levure, et dans quelles mesures ces affinités chimiques permettent d'expliquer les phénomènes dont elle est le siège.

Cette première recherche a porté exclusivement sur les ions; qu'il s'agisse d'ions minéraux ou d'ions organiques, il semble bien que les ions positifs pénètrent aisément dans la cellule, pour en chasser les ions positifs que la cellule possède déjà. Les lois du déplacement d'ions entre sels solubles et sels insolubles permettent de prévoir l'ordre de grandeur des phénomènes qui se produisent dans la cellule : ces lois font prévoir qu'un ion monovalent aura une faible action déplaçante, un ion bivalent une action beaucoup plus forte. L'expérience vérifie ces conclusions.

Il n'y a pas à douter que le phénomène « élémentaire » ne soit bien un phénomène d'échanges d'ions, puisque nous retrouvons quantitativement en solution les ions de la cellule déplacés par les ions introduits.

La cellule vivante se comporte *d'une façon analogue* à un précipité de sels insolubles, dont les anions sont toujours insolubles, dont les cations s'échangent contre ceux de la solution ambiante.

Les analogies, étudiées de plus près, sont les suivantes : toutes les fois qu'un cation pénètre dans la cellule, un autre en sort ; le signe électrique est le facteur principal de l'échange ; ions minéraux et ions organiques se comportent de même, les ions H empêchent l'échange, et cela en fonction de la concentration du cation introduit. Les ions bivalents ont un pouvoir de déplacement beaucoup plus élevé que les ions monova-

lents, et cela conformément à ce que fait prévoir la loi d'action de masse.

Le coefficient de partage (rapport de la concentration finale à la concentration initiale) est indépendant de la concentration initiale quand on opère avec des ions monovalents ; il varie au contraire dans le même sens que la concentration initiale, quand on opère avec des ions bivalents.

Quel que soit le cation utilisé, sa vitesse de pénétration est toujours la même : elle est très rapide dans les premières minutes, puis diminue progressivement pour devenir nulle au bout d'une heure environ : à ce moment, la cellule est en équilibre avec le milieu ambiant. Ces deux temps correspondent à des stades différents de la pénétration du métal dans la cellule : au début de l'expérience, l'échange ne se fait qu'avec la membrane, et, ce n'est qu'au bout de dix minutes environ que le métal commence à pénétrer dans l'intérieur même de la cellule pour venir se fixer au niveau du vacuome.

L'étude des colorations vitales aboutit aux mêmes conclusions. Les cellules de levure et les algues marines étudiées se colorent uniquement, à l'état vivant, par les colorants basiques qui se localisent exclusivement sur la membrane et les vacuoles. Nous avons montré que la coloration vitale ainsi obtenue était un phénomène d'échange de cations.

La cellule est caractérisée, non par la quantité et la nature des divers cations : K, Ca, Mg, qu'elle possède, mais par la *quantité totale de cations* qu'elle est susceptible de posséder. Cet « *indice de cations* » est une grandeur bien définie pour une cellule à un instant donné ; pour des cellules de levure cultivées dans des conditions analogues, il reste à peu près le même. Les expériences faites ici sur la levure de boulanger nous donnent à peu près les chiffres que LINTNER a trouvés dans ses analyses de levure de brasserie, à Munich, il y a cinquante ans environ.

Cet « *indice de cations* », révélé par l'analyse des cendres de la cellule, permet de déterminer la quantité maxima de cations divers que l'on pourra faire pénétrer dans la cellule, en se plaçant dans le cas où le déplacement peut être total, c'est-

à-dire en traitant la cellule de levure un grand nombre de fois par des solutions constamment renouvelées du même sel. L'expérience montre que la quantité de cations que l'on peut faire pénétrer dans la cellule est au plus égale à « l'indice de cations » ainsi défini, quelle que soit la nature des cations étudiés, à quelques exceptions près toutefois. Ce résultat plaide en faveur d'une conception où ce seraient réellement des acides organiques, insolubles, des forces de « valence primaire » qui retiendraient les cations dans la cellule. Les expériences que LOEB avait faites avec des protéines, plus ou moins dénaturées, comme la gélatine, ou bien avec des protéines constituant des réserves à l'état d'inertie chimique comme l'albumine, l'édestine, la caséine, peuvent donc se répéter avec le même succès sur des cellules vivantes, comme des cellules de levure. Le fonctionnement de la cellule vivante repose en premier lieu sur les lois élémentaires de la chimie minérale. Les méthodes d'études chimiques inaugurées il y a trente ans par H. DEVAUX, systématiquement employées par J. LOEB, il y a dix ans, sont donc des instruments de recherches précieux.

La cellule de levure *ne se comporte pas, cependant, d'une façon identique* à un précipité de sels insolubles et ceci pour plusieurs raisons :

1° La cellule vivante est un système hétérogène. Membrane, vacuoles, protoplasma, se comportent différemment.

2° La cellule vivante est organisée : elle possède une structure définie, lui donnant une perméabilité limitée ; sa membrane est un « ultrafiltre » au sens de RUHLAND, et non un précipité parfaitement poreux.

3° La cellule vivante possède d'autres affinités que des affinités purement ioniques. Elle a par exemple un pouvoir réducteur énorme vis-à-vis de certains ions comme Ag.

Nous allons voir en détail ces trois propriétés de la cellule vivante :

1° *La cellule vivante est un système hétérogène.* — Nous avons vu, à propos des expériences sur le plomb, que la membrane fixe instantanément les ions minéraux ; d'autre part, à la longue, les vacuoles de la cellule fixent du plomb, à l'exclusion du protoplasme. La pénétration lente du plomb dans

les vacuoles est due à la diffusion lente des ions à travers le protoplasme.

En définitive, seuls les ions de la membrane et des vacuoles s'échangent contre les ions des solutions salines extérieures. Pour avoir une idée des proportions relatives d'ions que contiennent les vacuoles et la membrane, il suffit de se reporter à l'étude de la vitesse d'absorption. Nous avons vu (tableau XXXIX) qu'en laissant des cellules de levure pendant une minute seulement au contact d'une solution de nitrate de plomb, celles-ci prennent 45 pour 100 des ions Pb de la solution ; l'examen microscopique pratiqué à ce moment montre que la membrane seule est colorée, à l'exclusion des vacuoles. Puis, au fur et à mesure que le contact de la cellule avec la solution se prolonge, le plomb pénètre lentement à l'intérieur même de la cellule et au bout de 50 minutes environ, l'équilibre est atteint : 70 pour 100 du plomb sont alors absorbés. Étudiée sous le microscope à ce moment, la cellule traitée par H^2S montre, non seulement sa membrane, mais encore ses vacuoles chargées de plomb.

Les vacuoles ont donc pris sensiblement la moitié de ce que la membrane a pris pour elle. Les phénomènes d'échanges d'ions sont toujours plus marqués au niveau de la membrane qu'au niveau des vacuoles.

En résumé, le protoplasme se comporte comme un système pratiquement neutre, dépourvu de charges électriques. Celles-ci semblent localisées sur la membrane et les vacuoles ; en d'autres termes, les acides organiques insolubles sont localisés dans la membrane et dans les vacuoles.

Pouvons-nous avoir une idée de la nature des substances qui jouent le rôle d'acides organiques insolubles ?

Ceux-ci peuvent être en effet des acides amphotères ou des acides non aminés. On sait, depuis J. Lœb, que les électrolytes amphotères existent sous trois états différents, selon la concentration en ions H du milieu ambiant. Ainsi, la gélatine, peut se présenter à l'état de gélatine isoélectrique (à $pH = 4,7$ point isoélectrique de la gélatine), à l'état de gélatinate métallique (pour un $pH > 4,7$), ou enfin à l'état de sel de gélatine (pour un $pH < 4,7$).

Or, l'ordre de grandeur des points isoélectriques des protéines végétales et animales n'est jamais inférieur à $\text{pH} = 3$. Si donc, les acides organiques de la membrane et des vacuoles de la levure étaient des électrolytes amphotères, en opérant dans des milieux acides, à des pH compris entre 1 et 3, la levure devrait se comporter comme une base en fixant l'anion et donner des chlorures, des nitrates, des éosinates, etc... Or, l'expérience maintes fois répétée, a montré que, même en milieu très acide, la levure ne fixait aucun anion en quantité si faible que ce fut, et cela quel que soit l'anion expérimenté (Cl , SO_4 , NO_3 , etc...). Nous avons montré, d'autre part, que la levure ne se colore jamais par les colorants acides.

Nous pouvons donc affirmer que les acides organiques de la membrane et des vacuoles ne sont pas des électrolytes amphotères.

Il est possible d'avoir une idée du degré de dissociation de ces acides. Nous avons vu (tableau XXX) que l'ion monovalent NH_4^+ s'échangeait contre les ions de la cellule de levure à partir de $\text{pH} = 4$ et que, au-dessous de cette valeur, il n'y avait pratiquement aucun déplacement. Or, si l'on opère en solution plus concentrée, le phénomène apparaît à partir d'une valeur plus basse du pH ; inversement, en opérant en solutions plus diluées l'échange débute à des pH plus élevés. La démonstration est particulièrement nette avec le bleu de méthylène (tableaux LXVI, LXVII).

Tout nous porte à penser que le degré de dissociation des acides organiques de la levure qui participent aux échanges ioniques est du même ordre de grandeur que celui des acides organiques, tels que l'acide succinique ou l'acide tartrique.

Sur la nature même de ces acides, nous ne pouvons faire que des hypothèses; les acides de la membrane appartiennent vraisemblablement aux acides des « gommes »; la « gomme » de la levure est en effet connue de tous ceux qui se sont occupés de purifier les ferments de la levure, comme jouant le rôle d'un acide organique.

Cas des cellules mortes. — Nous avons vu (tableau XLI) que les cellules de levure mortes fixent près de quatre fois plus de plomb métallique que les cellules vivantes. Nous avons été

ainsi amenés à la notion « *d'indice de plomb* ». L'examen microscopique d'autre part, nous a révélé que dans ce cas, non seulement membrane et vacuoles sont le siège de l'absorption, mais encore que le protoplasma lui-même participe à ce phénomène. La cellule, de ce fait, est entièrement colorée en noir, après action du réactif au Na_2S . La mort de la cellule a déterminé l'écroulement de l'échafaudage de la grosse protéine protoplasmique, libérant ainsi un grand nombre de matériaux acides. L'énorme polypeptide qui constitue le protoplasma vivant est formée de groupements NH_2 et COOH qui se saturent réciproquement : c'est la raison pour laquelle le protoplasma vivant est neutre. La mort du protoplasma amène une rupture des liaisons chimiques entre les molécules ; il y a libération d'un nombre considérable de groupements acides qui, fonctionnant chacun pour leur compte dans les échanges d'ions, provoquent de ce fait, une accumulation ionique dans la cellule morte beaucoup plus importante que dans le cas de la cellule vivante.

2° *La cellule vivante est organisée* ; elle n'est pas également perméable à tous les ions. Les recherches osmotiques de PAINE, de WIERINGA, ont montré que la cellule de levure, et en tous cas l'intérieur de la cellule de levure, est imperméable aux sels de sodium. Les recherches chimiques ont montré que, alors que les ions K , Ca , NH_4 , pénètrent aisément dans la cellule, l'ion Na pénètre très peu. Il s'agit ici d'un phénomène propre à presque toutes les cellules vivantes : les cellules sont toutes pauvres en Na , riches en K , alors qu'elles vivent dans un milieu très riche en Na (eau de mer, humeurs des tissus) et pauvre en K .

Pour expliquer ce phénomène, il faut faire appel à la notion de membrane jouant le rôle d'ultrafiltre, notion défendue par RUHLAND depuis 1911, et à la notion d'hydratation de l'ion sodium, notion appliquée à la cellule musculaire et à l'érythrocyte par MOND en 1928.

La membrane est ainsi formée d'une mosaïque de molécules dont les interstices sont réguliers et bien délimités, à travers lesquels circulent les ions qui s'échangent. La membrane criblée ainsi les ions et les molécules neutres qui sont présents

dans le milieu extérieur, et ne laisse passer, par suite, que ceux ou celles dont le volume moléculaire est inférieur à la dimension des interstices compris entre les molécules de la membrane.

« La membrane se comporte comme les barreaux d'une cage à oiseaux, qui laisse entrer et sortir les mouches, mais ne laisse pas entrer ou sortir les oiseaux (GÉNEVOIS) ».

L'ion sodium serait enrobé de molécules d'eau ; cette robe lui donne une vitesse de diffusion beaucoup plus faible que celle de l'ion K. ou de l'ion Ca ; cette robe l'empêcherait de pénétrer profondément dans la membrane.

Cette conception rend compte d'une manière simple des écarts de composition entre la cellule et le milieu où elle vit, au moyen d'un minimum d'hypothèses.

3° *La cellule vivante présente d'autres affinités que les affinités purement ioniques.* — Elle est capable de réduire l'ion Ag même en solution extrêmement étendue. L'étude du phénomène montre qu'il est impossible de confondre cet effet avec l'effet d'échange d'ions. La cellule vivante est tuée pour des doses d'argent infinitésimales par rapport aux quantités d'ions qu'elle possède elle-même, alors que de grandes quantités de Pb ne lui sont nullement toxiques.

Alors qu'un ion monovalent comme Ag ne devrait pénétrer qu'en faible quantité aux faibles concentrations, la liqueur argentique perd absolument tout l'argent qu'elle contient à des dilutions extrêmes. La cellule vivante se comporte ici, non comme un acide insoluble, mais comme un aldéhyde insoluble, comme un sucre insoluble.

L'étude de ces affinités réductrices de la cellule vivante est encore entièrement à faire.

Le phénomène d'échange d'ions tel que nous le concevons doit être à la base d'un grand nombre de faits relatifs à la nutrition minérale des tissus. H. DEVAUX enseignait, dès 1904, que « les bases n'étaient pas retenues et mises en réserve seulement dans le sol, mais l'étaient aussi dans l'enveloppe cellulaire à la portée immédiate du protoplasma : l'ensemble sol et parois cellulaires forme ainsi un système colloïdal ayant partout les mêmes propriétés ».

BIBLIOGRAPHIE

- AUBEL et DEVAUX H. — L'absorption des ions par le verfe. Procès-verbaux de la Soc. Sc. Phys. et Nat. de Bordeaux, 1925-1926.
- BAUER V. — Die Froschhaut als Organ der Wasser resorption. Die « irreciprocke Permeabilität » der Hautmembran. *Pfegers Archiv.*, CCIX, 301-332, 1925.
- BIALASZEWICZ K. — Recherches sur la répartition des électrolytes dans le protoplasme des cellules ovulaires. *Protoplasma*, VI, I, 1929.
- BLUM et DE LA VILLE. — Etude des modifications du sang et des humeurs par ultrafiltration. *C. R. Ac. Sc.*, III, 9, 1925.
- BOTTAZZI. — La membrana protoplasmica e la permeabilita cellulare. *Arch. Scienze Biologiche*, 10, 245, 1927.
- BROOKS M.-M. — Studies on the permeability of living cells. *Protoplasma*, II, 420, 1927.
- BROOKS M.-M. — The penetration of methylene blue into living cells. *Proc. Nat. Acad. Sc. Washington*, XII, 821, 1927.
- CHAMBERS R., POLLACH H. and HILLERS S. — The protoplasmic pH of living cells. *Proc. Soc. experim. Biol. and Medecine*, XXIV, 761, 1927.
- CHARRION A. — Déplacement réciproque des corps adsorbés par les précipités. Procès verbaux, séances Société Chimique de France, 44, rue de Rennes, 12 mars 1925, p. 11.
- COHN E.-J., GROSS J. and JOHNSON O.-C. — The iso-electric point of some vegetable proteins. *Journ. Gen. phys.*, II, 145, 1919.
- COUPIN H. — Sur la toxicité des sels de cuivre à l'égard des végétaux supérieurs. *C. R. Ac. Sc.*, CXXVII, 1898.
- CROZIER W.-J. — Intracellular acidity in Valonia. *Journ. of. gen. Phys.*, I, 581, 1919.
- DEMOUSSY et ANDRÉ. — Absorption sélective du potassium par les plantes. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, 1925, juillet, pp. 806-810.
- DEVAUX H. — 1) Empoisonnement spontané des plantes aquatiques par les eaux du laboratoire de botanique. *Mémoires Soc. Sc. Phys. et Nat. de Bordeaux*, 5^e série 1896.
- 2) Sur les réactifs colorants des substances pectiques. *Pr. Ver. Soc. Linéenne de Bordeaux*. Séance du 6 février 1901.
- 3) Sur la coloration des composés pectiques. *Ibidem*, 20 mars 1901.

- 4) Généralité de la fixation des métaux par la paroi cellulaire. *Ibidem*, 3 avril 1901.
- 5) De l'absorption des poisons métalliques dilués par les cellules végétales. *C. R. Ac. Sc.*, 132, 717, 1901.
- 6) Sur la pectose de la paroi cellulaire et la nature de la lamelle moyenne. *P. V. de la Soc. Linéenne* de Bordeaux, 4 mars 1903.
- 7) Comparaison des pouvoirs absorbants des parois cellulaires et du sol pour les sels dissous. *P. V. Soc. Sc. Phys et Nat.* de Bordeaux, 7 janvier 1904.
- 8) Déplacement du calcium et des bases fixées dans la plante vivante. *ibidem*, 27 janvier 1916.
- 9) Echanges réversibles des bases entre la plante et son milieu. *Ibidem*, 10 février 1916.
- 10) Fixation rapide par la plante vivante du fer et d'autres métaux lourds. *Ibidem*, 13 avril 1916.
- 11) Action rapide des solutions salines sur les plantes vivantes : déplacement réversible d'une partie des substances basiques contenues dans la plante. *C. R. Ac. Sc.*, 162, 561, 1916.
- 12) Nouvelles recherches sur l'absorption et le déplacement du plomb dans une plante vivante. *P. Verboux. Soc. Sc. Phys. et Nat.* de Bordeaux, 7 avril 1921.

DRZEWINA A. et BOHN G. — Action antagoniste de l'argent et de l'étain métalliques sur les êtres vivants. *C. R. Ac. Sc.*, CLXXXIII, 571, 1926.

EHRlich F. und KOMAHLY A. — Uber die Chemie des Pektins der Obstfrüchte. *B. Z.*, 212, 162, 1929.

EHRlich F. und SCHUBERT F. — Recherches sur les acides tétraga-lacturoniques extraits des pectines. *Ber. D. Ch. Ges.*, 62, 1973, 1929.

EHRlich F. und SOMMERFELD R. — Recherches sur la pectine de la betterave à sucre et sur la pectine du chanvre. *Bioch. Zeit.*, 168, 263, 1926 ; 169, 13, 1926.

FLEISCHMANN W. — Untersuchungen zur Frage der Permeabilität pflanzlicher und tierischer Zellmembranen für Kohlehydrate, *Pflügers Archiv.*, 220 ; 448-465, 1928.

FONTAINE M. — Tension superficielle et échanges entre les cellules végétales et le milieu extérieur. *C. R. Soc. Biol.*, X, 1484, 1926.

GENAUD P. — (1) Dosage de quelques substances minérales dans les muscles d'animaux. *C. R. Soc. Biol.*, tome XCIX, N° 35, p. 1730, 1928.

- 3) Sur les imbibitions de muscles normaux dans différents milieux. *Ibidem*, p. 1731, 1928.

- 3) Statique et dynamique de l'eau dans l'organisme *Thèse Médecine*, Bordeaux 1928.
 - 4) Les échanges d'ions entre cellules de levure et solutions de chlorure d'ammonium. *C. R. Ac. Sc.*, 188, 15, 22 mai 1929.
 - 5) Les échanges d'ions entre cellules de levure et solutions de Nitrate de Plomb. *C. R. Ac. Sc.*, 189, 591, 1929.
- GENAUD P. et GÉNEVOIS L. — 1) Sur l'intensité du métabolisme des cellules de levure. *C. R. Soc. Biol.*, tome C, N° 13, p. 1127, 1929.
- 2) Sur la constitution minérale de quelques chlorophycées marines. *Bulletin Soc. Scientifique*, Arcachon, 26, 1929.
- GÉNEVOIS L. — 1) Sur les échanges d'ions entre sels solubles et sels très peu solubles. Les échanges d'ions dans les tissus végétaux. *P. V. Soc. Sc. Phy.*, Bordeaux, 24 décembre 1925.
 - 2) Sur la fermentation et la respiration chez les végétaux chlorophylliens. *Revue générale de Botanique*, 1929.
 - 3) Coloration vitale et respiration. *Protoplasma*, IV, 67, 1928.

GIRARD P. — La perméabilité sélective des parois vivantes et inertes aux ions et les conséquences chimiques qu'elle comporte. *Annales de Phys. et de Physicochimie Biol.*, I, 194, 1925.

HAMMETT. — Studies in the biology of metals. *Protoplasma*, IV, 183, 187, 1928. V, 135, 535, 547, 1929.

HEVESY G. — The absorption and translocation of lead by plants *Biochemical Journal*, 17, 439-445, 1923. 17, 263-74, 1923.

HOAGLAND and DAVIS. — The intake and accumulation of electrolytes by plant cells. *Protoplasma*, VI, 610, 1929.

HOAGLAND and DAVIS. — The composition of the cell salt of the plant in relation to the absorption of ions. *Journ. of Gen. Phys.*, V, 629, 1923.

HÖBER R. und HOFFMANN F. — Über das elektromotrische Verhalten von Kunstlichen Membranen mit gleichzeitig selektiv Kationen und selektiv anionendurchlässigen Flächenstücken. *Pflügers Archv.*, 220, 558-564, 1928.

IRWIN M. — Does methylene blue penetrate living cells? *Nature*, 939, juin 1928.

LAPICQUE L. — La cellule est-elle enveloppée d'une membrane semi-perméable? *Annales de Physiologie et de Physicochimie biologique*, I, 85, 1925.

LAPICQUE L. — Sur l'absorption des sels par les cellules végétales; épictèse et sélection. *Bull. Soc. Chim. Biol.* VII, 621, 1925.

LINTER. — Chemie der Hefe. Leipzig, 1915.

LUNDEGARDH und MORAVEK. — Untersuchungen über die Salzaufnahme der Pflanzen. *Biochem Zeitschr.*, 151, 296, 1924.

- MANGIN L. — Sur l'emploi du rouge de Ruthénium en anatomie végétale. *C. R. Ac. Sc.*, 116, p. 653, 1893.
- MESTREZAT et GARREAU. — Chloruration des humeurs dans ses rapports avec la vitesse des échanges minéraux ; caractère sélectif de la perméabilité cellulaire. *Bulletin Soc. Chimie Biologique*, juin 1925.
- MESTREZAT et GARREAU. — Vitesse de diffusion des ions à travers un septum dans ses rapports avec la présence de molécules extérieures susceptibles de fournir des ions d'échange. *Annales de Phys. et de Phys.-Chimie Biol.*, t. I, N° 2, pp. 212-262, mai 1925.
- MESTREZAT W., GIRARD P. et MORAX V. — Recherches expérimentales sur la perméabilité cellulaire aux ions. *C. R. Soc. Biol.*, II, 69, 144, 227, 1922.
- MESTREZAT W. et GIRARD P. — Recherches expérimentales sur la perméabilité des cellules aux ions. *C. R. Soc. Biol.*, II, 356, 448, 1922.
- MESTREZAT W., GIRARD P. et LI-SHOU-HOUA. — Recherches expérimentales sur la perméabilité des cellules aux ions. *C. R. Soc. Biol.*, II, 358, 1922.
- MICHAELIS L. und FUJITA A. — Untersuchungen über elektrische Erscheinungen und Ionendurchlässigkeit von Membranen — Die Permeabilität der Apfelschale. *Bioch. Zeitschr.*, CLVIII, 28-27, 1925.
- MICHAELIS L. und FUJITA A. — Untersuchungen über elektrische Erscheinungen und Ionendurchlässigkeit von Membranen. Potentialdifferenzen und Permeabilität von Kollidionmembranen. *Bioch. Zeitschr.*, CLXI, 47-60, 1925.
- MOLLIARD M. — Action des acides minéraux sur la teneur en cendres du *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Soc. Biol.*, LXXXII, 754, 1919.
- MOLLIARD M. — Nutrition de la plante. Echanges d'eau et de substances minérales. Librairie O. Doin, 1921.
- MOND R. und HOFFMANN. — Weitere Untersuchungen über die Membranstruktur der Blutkörperchen. Die Beziehungen zur Durchlässigkeit und Molekularvolumen. *Pflügers Archv.*, 219, 467, 1928 ; 220, 194-202, 1928.
- MOND R. und AMSON K. — Über die Ionenpermeabilität der quergestreiften Muskulatur. *Pflügers Archv.*, 220, 69, 1928.
- MOND R. — Umkehr der Anionenpermeabilität der roten Blutkörperchen in eine elektive Durchlässigkeit für Kationen. Ein Beitrag zur Analyse der Zellmembran. *Pflügers Archv.*, CCXVII, 618, 1927.

- NETTER H. — Über die Elektrolytgleichgewichte an elektiv ionenpermeablen Membranen, und ihre biologische Bedeutung. *Pflügers Archiv.*, CCXX, 107-123, 1928.
- OSTERHOUT W.-J.-V. — Sur la diminution de la perméabilité due à certains cations bivalents. *Bot. Gaz.*, 59, 317, 1915 ; 59, 242, 1915.
- OSTERHOUT W.-J.-V. — Is living protoplasma permeable to ions ? *Journ. Gen. Phys.*, 8, 131, 1925.
- PAINE S.-G. — The permeability of yeast cell. *Proc. Roy. Soc. London B.*, 84, 289, 1911.
- PANTANELLI. — Über Ionenaufnahme. *Protoplasma*, VII, p. 129, 1929.
- PANTANELLI. — 1) Assorbimento elettivo di ioni. *Bull. R. Inst. Botanico Napoli*, 5, 1, 1915.
- 2) De corso dell' assorbimento di ioni nelle piante. *Ebenda*, 6, 1, 1918.
- 3) Assorbimento ellettiva di ioni da soluzioni equilibrate. *Ebenda*, 6, 261, 1920.
- 4) Influenza della concentrazione sul meccanismo di assorbimento dei sali nelle piante. *Archv. Scienze Biol.*, 12, 163, 1928.
- PATSCHOVSKY M. — Über einen microchemischen Nachweiss des Kaliums als Kaliumpikrat. *Ber d. deutsch. bot. Ges.*, XLIII, 489-497, 1925.
- PEARSALL W.-H. and EWING J. — The diffusion of ions from living plant tissues in relation to protein iso-electric point. *New Phytologist*, XXIII, 1924.
- PETRIE A.-K.-H. — The effect of temperature on the unequal intake of the ions of salts by plants. *Austral. Journ. of Exp. Biol. and Med. Sc.*, IV, 169, 1927.
- POLLICARD A. et PILLET R. — Sur la détection par micro-incinération du K et du Na dans le cytoplasme des hématies. *C. R. Soc. Biol.*, XCIX, 85, 1928.
- RAAB E. — Ueber die Bindung des Kaliums im Muskel. *Pflügers Archiv.*, CCXVI, 540, 1927.
- RAAB E. — Permeabilität und Atmung der Ganseerythrocyten. *Pflügers Archiv.*, CCXVII, 124, 1927.
- RABER O. — Perméabilité de la cellule aux électrolytes. *Bot. Gaz.*, LXXV, 298, 1923.
- REISS P. — Le pH intérieur cellulaire. 135 p., 18 fig., *Presses universitaires de France*, Paris, 1926.
- RIPPEL A. — Quantitative untersuchungen über Kationenaustausch in der Pflanze. *Jahr. f. Wiss. Bot.* LXV, 819, 1926.
- ROBERT (M^{lle} Th.). — Recherches sur le rôle physiologique du calcium chez les végétaux. *Thèse*, Paris 1915.

- RUFZ DE LAVISON. — Du mode de pénétration de quelques sels dans la plante vivante. Rôle de l'endoderme. *Rev. gén. Bot.*, XXII, 225, 1910.
- RUFZ DE LAVISSON. — Du mode de pénétration de quelques sels dans la protoplasma et sur la nature de leur action toxique. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9^e série, XIV, 97, 1911.
- RUHLAND W. and HOFFMANN. — Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Ein Beitrag zum Ultra-filter theorie des Protoplasmes. *Archv. für wissenschaftliche Botanik*, I, 1, 1925.
- RUHLAND W. — Jahrb. f. wiss. Botanik. 46, I, 1908 ; 50, 200, 1911 ; 54, 391, 1914. *Biochem. Z.*, 54, 59, 1913.
- RYSELBERGHE (Van). — Influence de la température sur la perméabilité du protoplasma vivant. *Rec. Inst. bot. Univ.*, Bruxelles, V, 209, 1901.
- SCARTH G.-W. — The penetration of cations into living protoplasma. *American Journ. of Botany*, XII, 133, 1925.
- SEN B. — The effect of temperature on the permeability of protoplasmic membrane. *Proc. Roy. Soc. London*, 724, 273, 198.
- STEWART F.-C. Phosphatides in the limiting protoplasmic surface. *Protoplasma*, VII, 602, 1929.
- STILES W. — Détermination de la perméabilité des cellules végétales aux substances dissoutes. *New Phytologist*, XXII, 1-29, 1923.
- STILES W. — Absorption des sels par les tissus. *Annals of Botany*, XXXVIII, 617-633, 1924.
- THOMAS P. — Recherches biochimiques sur les protéines de la levure. *Thèse*, Paris 1919.
- TUDOR J. — Does methylene blue penetrate living cells ? *Nature*, 133, juillet 1928.
- WERTHEIMER E. — Über die irreciprocke Permaebilität lebender Membranen. *Pflügers Archv.*, 255-259, 1926.
- WIERINGA. — Quantitative permeabilitäts Messungen. *Protoplasma*, VIII, 522-584, 1930.
- WOJTEZAK A. — Recherches sur la perméabilité des muscles pour les électrolytes pendant le travail et le repos. *Trav. Inst. Nenki*, IV, 58, 1927.
- ZYCHA H. — Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Permeabilität von Blattzellen für Salze. *Jahr f. wiss. Bot.*, LXVIII, 499, 1928.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

1. Modes de régulation du pH dans la série animale
 2. Phénomènes chimiques et physiologiques de la carence en vitamine A.
-

Vu et approuvé :

Paris, le

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
M. MAURAIN

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY

IMPRIMERIE SAINT-DENIS -- NIORT
